La Vague

LE MAGAZINE DE LA PHARMA ET DES BIOTECHS

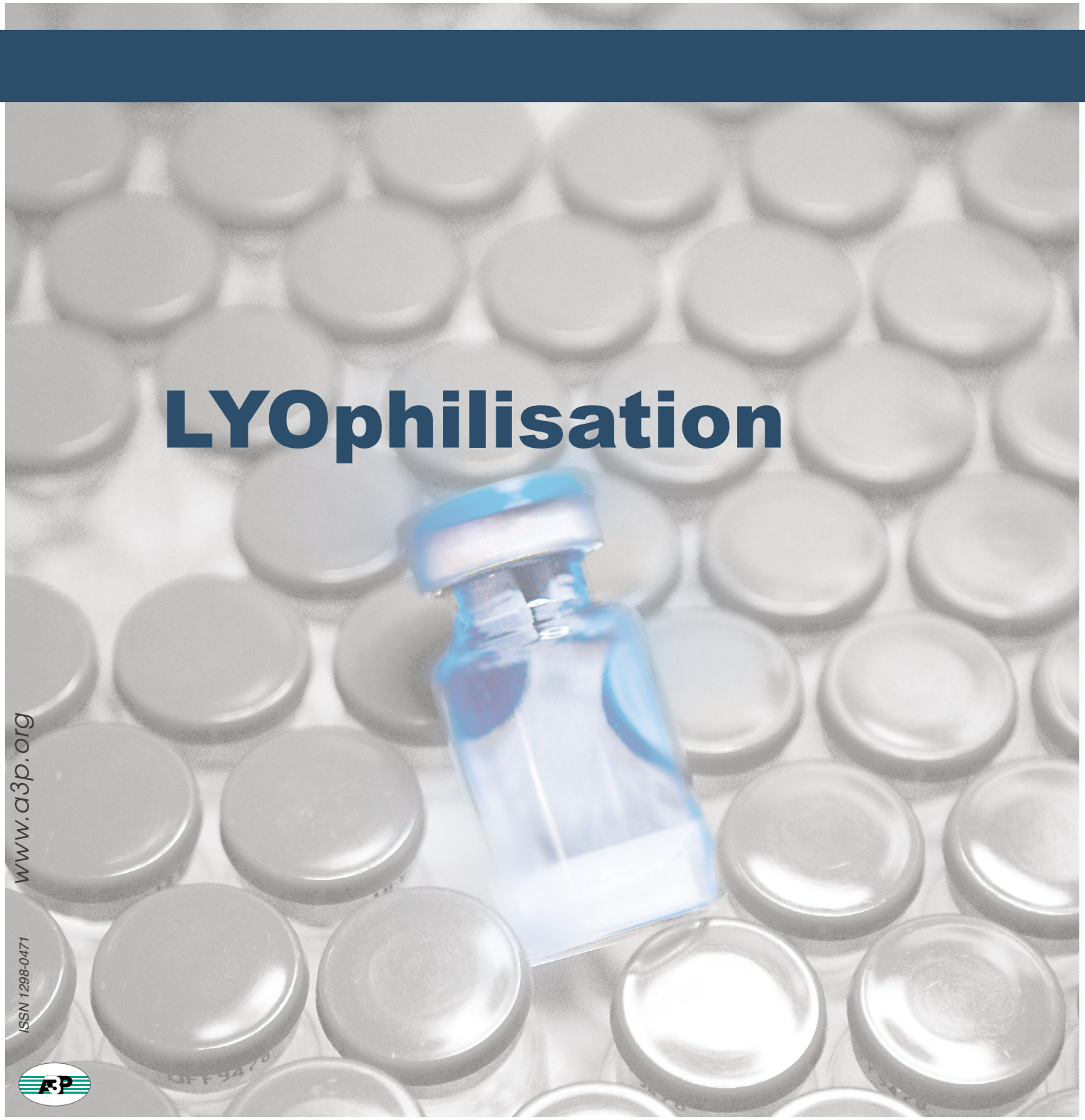
N° 73 I Avril 2022
Trimestriel

Pourquoi et comment faire une caractérisation thermique d'un produit avant lyophilisation ?

Comment mener une analyse de risque contamination sur un procédé de lyophilisation ?

Les spectromètres de masse. Retour d'expérience.

Tout sur la norme EN17272 relative à la désinfection par voie aérienne automatisée.



LYOphilisation

www.a3p.org

ISSN 1298-0471

Sommaire

N°73 // Avril 2022

Édito I Production de produits lyophilisés propres et stériles. Requis & enjeux 3

Ils ont participé à ce numéro I Nos contributeurs 4

Billet d'humeur I Pour prévoir l'avenir, il faut connaître le passé..... 5

Actualités A3P I Vos prochains rendez-vous A3P 6

Réglementaire I Toutes les évolutions 7

Actualités A3P I A3P Microbiologie 9

Lyo I Pourquoi et comment faire une caractérisation thermique d'un produit avant lyophilisation ?.....12

Lyo I Les clés d'une qualification réussie 17

Lyo I Comment mener une analyse de risque contamination sur un procédé de lyophilisation ?.....19

Lyo I CIP evolution in freeze dryers. Optimize turnaround time & water consumption 24

Lyo I Bilan de l'enquête des BP de stérilisation en lyophilisation.....28

Lyo I Basiques en simulation de procédés aseptiques & lyophilisation.....31

Lyo I Silicon oil detection in pharmaceutical freeze dryer by mass spectrometry.....38

Lyo I Les spectromètres de masse. Retour d'expérience. 44

Désinfection I EN 17272. Tout ce que vous devez savoir sur la nouvelle norme relative à la désinfection par voie aérienne automatisée.....48

La Vague
Revue trimestrielle N° 73 - Avril 2022
Numéro offert aux adhérents de l'Association (valeur 10€)

• Directeur de la Publication
Didier MEYER, Vice-Président A3P
dgastonmeyer@gmail.com

• Rédactrice en chef
Anne RIGOULOT

• Coordinateur
Frédéric ESTASSY
festassy@a3pservices.com

• DA & conception fabrication
Sophie TORGUE
storgue@a3pservices.com

• Impression
VL développement
42000 Saint-Just-Saint-Rambert

• Editeur
A3P Association
30, rue Pré Gaudry - 69007 Lyon

• Dépot légal à parution
N° d'ISSN : 1298-0471

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

Imprimé sur du papier issu de forêts durables.

L'adhésion A3P évolue !

Inscrivez le site* de votre entreprise & faîtes bénéficier de tous les avantages à l'ensemble de vos collaborateurs.

Faire partie du **réseau** A3P, **recevoir** tous les trimestres **sur votre bureau la version papier** du magazine, et depuis votre espace personnalisé sur le site A3P, bénéficier de tous les **contenus techniques, scientifiques et réglementaires**, accéder aux **annuaires adhérents et sociétés**, participer à des **événements privilèges**, utiliser l'**application mobile, ...**

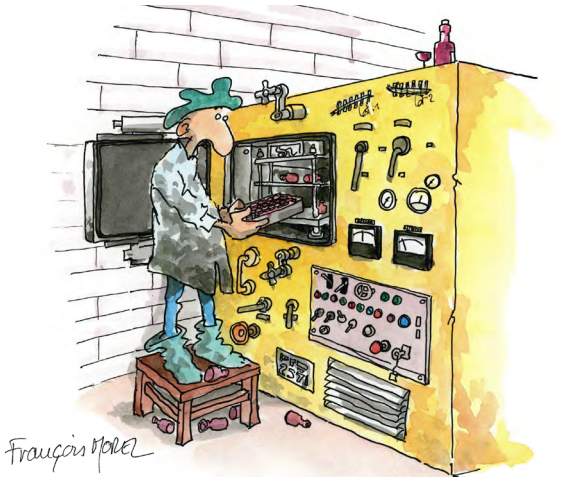
Toutes les infos sur www.a3p.org/adhesion/

**La cotisation Site fait référence à une adresse postale d'un laboratoire de production d'une société prestataire / fournisseur ou d'un siège social. Le montant est défini selon le nombre de salariés attachés au site. Cotisation valable 1 an de date à date et dans tous les pays où l'Association A3P est représentée.*

Edito

Par Sandrine FAVRE & Dominique SIERAKOWSKI– membres du GIC Lyophilisation

Production de produits lyophilisés propres et stériles, requis & enjeux .



La lyophilisation est un procédé complexe qui se déroule sous vide et met en œuvre d'autres procédés annexes réalisés en place, comme le nettoyage, la stérilisation, le contrôle d'intégrité des filtres à gaz, ... L'ensemble de l'installation présente un risque de contamination accru lors de la réalisation de toutes ces opérations. La maitrise de la contamination revêt une criticité toute particulière au regard de la qualité finale des produits et pour conséquence au regard du risque patient. Cet aspect de la maitrise de la contamination pour la production de formes lyophilisées est un des points majeurs du nouveau projet d'annexe 1 des BPF.

Commençons par un point sur le projet Annexe 1 et les changements majeurs notamment concernant la lyophilisation. Cette nouvelle version est issue d'une collaboration entre le Groupe International d'Experts Européen, du PICs et de l'OMS à laquelle s'ajoute la participation de l'industrie pharmaceutique. Elle présente une évolution significative par rapport à la précédente, qui va aider à garantir une gestion plus efficace des risques qualité et à assurer une meilleure maitrise des risques de contamination.

La version 2020 V12 plus complète, comporte notamment une section 8 qui couvre les productions et technologies spécifiques telle que la lyophilisation, où des exigences spécifiques s'appliquent. Comme par exemple :

- *Toutes les mesures de maitrise de la contamination en place doivent être déterminées / justifiées par la Contamination Control Stratégy (CCS).*
- *La stérilisation des lyophilisateurs et des équipements associés doit être validée et les temps de maintien entre les cycles de stérilisation doivent être challengés lors des tests de simulation du procédé aseptique "Aseptic Process Simulation".*
- *Le lyophilisateur doit être stérilisé régulièrement en fonction de la conception du système. Les lyophilisateurs stérilisés et équipements/matériels associés doivent être protégés de la contamination après la stérilisation.*
- *Les lyophilisateurs qui sont chargés ou déchargés manuellement doivent être stérilisés avant chaque chargement.*
- *Pour les lyophilisateurs chargés par des systèmes automatisés ou qui excluent l'intervention de l'opérateur, la fréquence de stérilisation doit être justifiée dans la CCS.*
- *La procédure de simulation du procédé aseptique (APS) pour les produits lyophilisés devra représenter l'ensemble de la chaîne de production, y compris le remplissage, le transport, le chargement, le séjour dans la chambre de lyophilisation, le déchargement et sertissage des unités produites dans des conditions spécifiées, documentées et justifiées représentant les paramètres de fonctionnement les plus défavorables.*

Ce numéro de la Vague reprend des thématiques clefs pour la maitrise du procédé de lyophilisation ainsi que pour la maitrise de la contamination avec des retours d'expérience d'utilisateurs et de fournisseurs, en intégrant une proposition de méthodologie pour adresser le "Quality Risque Management" en lien avec la "Contamination Control Strategy".
Bonne lecture !

Merci à nos Contributeurs

Ils ont participé à ce numéro

Sandrine FAVRE & Dominique SIERAKOWSKI, rédacteurs en chef invités de ce numéro

Antoine GONNIER
AKTEHOM

Christophe MEUNIER
AKTEHOM

Rédacteurs de "*Comment mener une analyse de risque contamination sur un procédé de lyophilisation ?*"

Antoine GONNIER est diplômé de l'école Polytech Annecy-Chambéry. Après 3 ans de gestion de projets lean manufacturing dans le secteur de la sous-traitance automobile, il rejoint le secteur de la santé et le métier du conseil en 2009. Il a développé son expertise autour de la maîtrise des systèmes de production (C&Q) et d'Information (VSI). Il accompagne l'évolution méthodologique mais aussi culturelle de ses clients, dans la gestion des risques patient (QRM), et la maîtrise de l'intégrité des données (Data Integrity).

Christophe MEUNIER est diplômé de l'INSA de Lyon. Après 10 ans de conduite de projets d'automatisation d'unités industrielles, principalement sur des sites pharmaceutiques (préparatoires de formes liquides, supervision de lignes, logistique et distribution), chimiques et agroalimentaires, il a rejoint le métier du conseil en 1997. Il a développé son expertise des systèmes de production et des Systèmes de Management de la Qualité. Co-fondateur d'AKTEHOM en 2005, il a dans un premier temps assuré la mise en place de la méthodologie AKTEHOM de gestion du Risque Patient (QRM : Quality Risk Management) en couplage avec la démarche de compréhension Produit / Process requise pour le QbD (Quality by Design). Il accompagne ses clients dans le cadre de leurs évolutions, notamment de QMS (Quality Management System) vers les orientations ICH, et de maitrise de l'intégrité des données (Data Integrity / Data Management). Il est également co-fondateur d'HUMANIM en 2020 et apporte un soutien aux transformations, en particulier les changements culturels (i.e. Quality Mindset). Il est membre du Conseil d'Administration de l'A3P

Antoine BABIN
BIOPHARMA TECHNOLOGIES FRANCE

Rédacteur de "Pourquoi et comment faire une caractérisation thermique d'un produit avant lyophilisation ?"

Antoine Babin est directeur général de la société Biopharma Technologies France (BTF) qui commercialise les lyophilisateurs SP Scientific en France ainsi que les appareils de caractérisations thermiques de Biopharma Technology Ltd. De plus, il co-anime une formation "apprendre à développer un cycle de lyophilisation"

Olivier CHANCEL
BOEHRINGER-INGELHEIM

Rédacteur de "*Basiques en simulation de procédés aseptiques & lyophilisation*"

Docteur en Pharmacie. Actuellement expert en assurance de la stérilité et des pratiques aseptiques ainsi qu'auditeur qualité pour le compte de Boehringer Ingelheim. A travaillé dans ou avec l'industrie pharmaceutique pendant plus 20 ans à divers postes, y compris en recherche et développement pharmaceutiques, assurance qualité, contrôle qualité, gestion de projet et production de formes sèches et injectables. A publié un certain nombre d'articles dans des revues à comité de lecture concernant les activités en salle blanche ou les pratiques aseptiques, a co-écrit plusieurs livres et également présenté/modéré lors de divers forums de l'industrie en Europe, en Asie et aux États-Unis (PDA, A3P, SFSTP, SMI, ASPEC , CEA , PHARMIG...).

Xavier GÓMEZ
TELSTAR

Pere JOVER
TELSTAR

Rédacteurs de "*CIP evolution in freeze dryers. Optimize turnaround time and water consumption*"

Xavier Gómez is the Lyophilization Portfolio Manager in Telstar®. He holds a bachelor's degree in Industrial Engineering from "UPC Terrassa" Spain and a master's degree in Mechatronics from "UPC Barcelona" .

Pere Jover is currently R&D Project Engineer in Telstar®. He holds a master's degree in mechanical engineering from "UPC Terrassa" Spain.

John CHEWINS
ECOLAB

Rédacteur de "EN 17272. Tout ce que vous devez savoir sur la nouvelle norme relative à la désinfection par voie aérienne automatisée"

20 ans d'expérience dans la bio-décontamination (peroxyde d'hydrogène et à base d'ozone). Membre de : CEN TC 216 – Comité des normes de désinfectant chimique ; NCE - Groupe de travail sur la désinfection par voie aérienne ; BSI CH 216/2 – Comité des normes de désinfection UV ; ISO TC 198 – Stérilisation des produits de santé ; GT 4 et 6 – EI et IC, WG 9 – Traitement aseptique ; GT 15 – Assurance de la stérilité, WG 16 – Stérilisation VH_2O_2

Rédacteurs de "*Silicon oil detection in pharmaceutical freeze dryer by mass spectrometry*"

Paul CORNEL
OPTIMA PACKAGING

Paul Cornel is working for Optima pharma in the process technology department since 2016. His main responsibilities are the planning and design of pharmaceutical freeze dryers, and in particular mass spectroscopy as an application for freeze drying. He graduated as a Master of Science in chemical and process engineering at the Karlsruhe Institute of Technology.

Matthias KOPP
OPTIMA PACKAGING

Matthias Kopp is employed by Optima Group as calculation engineer/PhD Student in subdivision pharma. His major responsibilities are process and flow simulations, focusing on development of new calculation and simulation models for process analysis, which are mainly related to VHP decontamination. Besides, he is an expert in freeze drying process modeling. His highest academic acquisition is the graduation as Master of Science at the technical university of Stuttgart (Germany).

Jan-Malte MOSBLECH
OPTIMA PACKAGING

Jan-Malte Mosblech is working in the pharmaceutical freeze drying industry since 2013. He studied mechanical engineering and is currently writing his master thesis in vacuum engineering also about mass spectrometry in pharmaceutical freeze drying.

Alexander TAMBOVZEV
OPTIMA PACKAGING

Alexander Tambovzev has a PhD in the field of refrigeration from the Technical University of Dresden. After graduating, he worked in the field of commercial and industrial refrigeration. At Optima pharma he was responsible for the project planning and development of the freeze-drying systems.

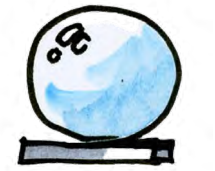
Vous aussi, vous souhaitez participer aux prochains numéros ? Faites-nous parvenir vos propositions d'articles qui seront étudiées par le comité de lecture pour approbation. => Coordonnées des contacts page 2

Billet d'Humeur

Par Thierry BONNEVAY – Membre du CA A3P

"Pour prévoir l'avenir, il faut connaître le passé, car les événements de ce monde ont en tout temps des liens aux temps qui les ont précédés"

Machiavel XVIè siècle



Au moment où j'écris ce billet d'humeur, difficile de ne pas prendre en compte l'actualité et la tragédie de la guerre en Ukraine après 14 jours de conflit et quand vous le lirez, cela aura forcément évolué (dans le bon sens je l'espère). Après déjà deux ans de crise de Covid-19 qui nous a tous affecté et modifié profondément notre quotidien, nous voilà confrontés à une guerre au frontière de l'Europe qui est en cours de modifier aussi massivement nos vies même si officiellement nous ne sommes pas en guerre avec la Russie. Pour la crise du Covid19, même si on voit une lueur d'espoir dans cette pandémie avec à partir de 14 mars la fin du protocole sanitaire en France, dont le port du masque et la distanciation sociale (sauf transport en commun et hôpitaux), on ne peut toutefois pas oublier que le virus n'a pas pour autant disparu, avec encore en France environ 70.000 cas par jour et malheureusement plus de 100 morts/jour toujours liés à ce virus !

Pour certaines entreprises mais aussi des particuliers et des familles, les conséquences de la guerre en Ukraine pourraient être malheureusement la crise de trop. Bien sûr, je n'ai aucune sympathie pour Vladimir Poutine, ni pour le régime Russe mais ce conflit avec l'Ukraine est très complexe, et il faut prendre le temps de se pencher sur l'histoire de l'URSS, et de l'Europe et des USA depuis la sortie de la seconde guerre mondiale. Bref, il faut être un expert de la stratégie politico-économique et avoir en main beaucoup d'informations (validées et sûres, ce qui est de plus en plus compliqué) avant de pouvoir juger au niveau de ces régimes et faire sa propre analyse. Je ne suis ni un "expert" ni un spécialiste dans ces domaines…Je préfère parler microbiologie (même si dans ce domaine je n'aime pas le mot expert car on apprend tous les jours dans ce monde du vivant).

Nous sommes face à des intérêts économiques stratégiques, le renouveau de la "grande Russie" et de la complexité politique et stratégique à tous les étages, ainsi que la mégalomanie de quelques individus.

Et avec la guerre supplémentaire "sous-marine" de l'information et sa manipulation, il est difficile d'avoir de l'information "sûre" pour pouvoir juger de cette nouvelle crise. Malgré tout, au-delà des régimes et de l'histoire de la Russie et de l'Ukraine, ce sont malheureusement les peuples Ukrainiens et Russes qui sont les victimes de cette folie, et c'est avec eux que je suis solidaire.

Après les 2 années de COVID, c'est maintenant "la guerre" qui va venir tout justifier (hyperinflation, restrictions à nouveaux peut être des libertés, etc…). La folie humaine brise encore des vies, l'histoire se répète malheureusement et un nouveau grand défi s'annonce pour la solidarité de l'Europe et du monde. Malgré tout, pour finir de noircir ce tableau, une autre crise va arriver dans les années à venir bien pire que les deux en cours, via la crise climatique mondiale que l'on a malheureusement tendance à oublier dans la conjoncture actuelle.

Mais je reste positif et confiant, et j'espère que la démocratie va réussir à l'emporter, que le moins de vie possible seront prises, que les peuples seront solidaires et enfin, que l'intelligence collective et la capacité créatrice humaine pourra maîtriser la crise climatique qui s'annonce.

Allons de l'avant, soyons positifs et profitons de chaque instant de la vie !

Enfin, avec l'ensemble du GIC A3P MAM et de mes deux comparses et amis "Microbes" Arnaud Carlotti et Eric Petat, on vous attend nombreux pour partager, échanger et débattre dans un esprit convivial comme sait le faire A3P pendant les deux journées de la Microbiologie à Lyon les 14 et 15 juin 2022 !

En 2022, A3P continue de vous accompagner.
Découvrez les thèmes abordés ...

CONTROL STRATEGY ICHQ12	10 MAI	Lausanne (SUISSE)
CONGRES A3P TUNISIE	12, 13 MAI	Monastir (TUNISIE)
CONGRES A3P MAROC	19, 20 MAI	Marrakech (MAROC)
A3P BELGIQUE	2 JUIN	BELGIQUE
COSMETIQUE	9 JUIN	Lyon
MICROBIOLOGIE : MAM, BIOBURDEN, ...	14, 15 JUIN	Lyon
ROUGING / DEROUGING	21, 22 SEPTEMBRE	Lyon
SINGLE USE	27 SEPTEMBRE	Lausanne (SUISSE)
ASEPTIC PROCESSING: ISOLATORS & RABS	27 OCTOBRE	Barcelone (ESPAGNE)
CONGRES INTERNATIONAL A3P	11, 12, 13 OCTOBRE	Biarritz
A3P BELGIQUE	17 NOVEMBRE	BELGIQUE
RABS & ISOLATEURS A3P ITALIE	22 NOVEMBRE	Milan (ITALIE)
PURIFICATION DSP	29 NOVEMBRE	Lyon

A3P Services / Selon la situation, nous continuons à vous proposer des événements au format le plus adapté. L'agenda des événements peut évoluer durant l'année.

Rejoignez la communauté A3P

LinkedIn

Programmes & inscription
www.a3p.org

Réglementaire

À ne pas manquer !

Ce point réglementaire trimestriel proposé par la société AKTEHOM, 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.

Analytique - Analytical

Origine	Titre	Type	Date
EDQM	**Publication de Pharmeuropa 34.1** *Tous les nouveaux textes et les textes révisés pour des raisons techniques sont publiés dans Pharmeuropa pour enquête publique. La date limite de réception des commentaires pour Pharmeuropa 34.1 est le 31 mars 2022.*	Draft	5/01/2022
ICH	**Validation of Analytical Procedures Q2(R2)** *L'ICH Q14 et l'ICH Q2(R2) décrivent le développement et les activités de validation suggérées pendant le cycle de vie d'une procédure analytique utilisée pour l'évaluation de la qualité des substances médicamenteuses et des produits médicamenteux. L'ICH Q2(R2) fournit des conseils pour établir, soumettre et conserver la preuve qu'une procédure analytique est adaptée à des fins précises (garantir la qualité des médicaments).*	Draft	24/03/2022
ICH	**Analytical Procedure Development Q14** *L'ICH Q14 et l'ICH Q2(R2) décrivent le développement et les activités de validation suggérées pendant le cycle de vie d'une procédure analytique utilisée pour l'évaluation de la qualité des substances médicamenteuses et des produits médicamenteux. L'ICH Q14 décrit les principes scientifiques pour le développement, la gestion du changement et l'exigence de soumission des procédures analytiques pour une approche minimale et améliorée.*	Draft	24/03/2022
USP	**USPNF 2022 Issue 1** *Publication de nouveaux chapitres généraux et monographies, applicables à partir du 1er février 2022.*	Final	28/01/2022
USP	**USPNF 2022 Issue 2** *Publication de nouveaux chapitres généraux et monographies, applicables à partir du 1er août 2022*	Final	25/03/2022

Développement - Development

Origine	Titre	Type	Date
FDA	**Considerations for the Development of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Products** *Ce guide vise à fournir aux sponsors des éléments pour le développement des cellules CAR-T. Il propose des recommandations dans les domaines du CMC (chemistry, manufacturing, and control), de la pharmacologie, de la toxicologie et de la conception des études cliniques.*	Draft	15/03/2022

Dispositifs Médicaux - Produits Combinés

Origine	Titre	Type	Date
FDA	**Medical Devices; Quality System Regulation Amendments** *Proposition de la FDA de modifier les exigences actuelles des bonnes pratiques de fabrication (CGMP) des dispositifs médicaux (21 CFR 4 & 820) afin de les aligner plus étroitement sur la norme internationale (ISO 13485) en convergeant avec les exigences du système de gestion de la qualité (QMS) utilisées par d'autres autorités réglementaires.*	Draft	23/02/2022

En collaboration avec AKTEHOM SANTÉ

Fabrication – Manufacturing

Origine	Titre	Type	Date
EMA	**Reflection paper on Good Manufacturing Practice and Marketing Authorisation Holders** *Ce document vise à clarifier le responsabilités entreprises titulaires d'AMM en termes de Bonnes Pratiques de Fabrication.*	Reflection paper	14/01/2022

Inspection – Inspection

Origine	Titre	Type	Date
PIC/S	**PIC/S GMP Guide (PE 009-16)** *Révision du guide GMP du PIC/S pour y inclure l'annexe 13 et l'annexe 16 des GMP européennes..*	Final	1/02/2022
PIC/S	**2021 Annual Report** *Publication du rapport annuel du PIC/S*	Rapport	25/03/2022

Système Qualité - Quality

Origine	Titre	Type	Date
FDA	**CDER Guidance Agenda New & Revised Draft Guidance Documents Planned for Publication in Calendar Year 2022** *Publication par le CDER des guidances prévues d'être proposées en 2022*	Info	7/02/2022

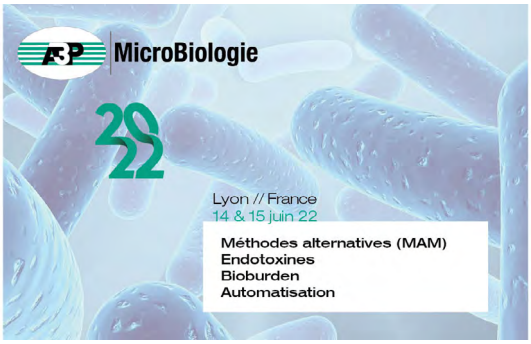
Conditionnement/Distribution - Packaging/Distribution

Origine	Titre	Type	Date
EC	**Eudralex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use - Annex 21: Importation of medicinal products** *La nouvelle annexe 21 présente les exigences BPF applicables à un titulaire d'une autorisation de fabrication et d'importation (MIA), lors de l'importation de médicaments (à usage humain, expérimental et vétérinaire) en provenance de l'extérieur de l'UE/EEE.* *L'annexe 21 'Importation of medicinal products' sera applicable à compter du 21 août 2022.*	Final	21/02/2022

En collaboration avec
AKTEHOM SANTÉ

Actualité

A3P MICROBIOLOGIE



Conférences

Revue de l'utilisation des Méthodes alternatives en Industrie Pharmaceutique en 2021. Retour d'enquête du GIC MAM	**Eric PETAT** TERANGA GROUPE
La Pharmacopée européenne et les méthodes alternatives microbiologiques	**Thierry BONNEVAY** SANOFI & Ph.Eur.
Impacts de la nouvelle Annexe 1 version 12 pour un laboratoire de Contrôle Qualité	**Stéphane CHABANON** LFB
Son nom est TOF, MALDI TOF ... au service de l'identification rapide des bactéries aux champignons filamenteux !	**Alexis BILLARD** STALLERGENES GREER
Identification microbienne par séquençage d'ADN	**Béatrice RÉVEILLAC** SERVIER
Isolats identifiés à Micrococcus luteus dans l'industrie pharmaceutique : apports du séquençage génomique	**Arnaud CARLOTTI** EUROFINS
Short overview of the A3P Survey results on In-Process Pre-Filtration Bioburden Testing for Sterile Products	**Isabelle HOENEN** LILLY
L'intérêt de la Cytométrie en flux en Microbiologie	**Marielle BOUIX** INRA
Méthodes alternatives (MAM) / Endotoxines/ Bioburden/ Automatisation	**Corinna KRAUSE & Maria GIRIBETS** BOEHRINGER-INGELHEIM PHARMA
Suitability of a Single Incubation Temperature for Environmental Monitoring Program	**Thierry BONNEVAY** SANOFI **& Laurent LEBLANC** BIOMERIEUX
Implementing a rapid sterility method: how we went from Bold idea to completed project at lightspeed	**Laura JASPAERT** PFIZER
Retour d'expériences sur utilisation du Bactalert pour le controle de sté des poches de nutrition parentérale	**Virginie EVRARD & Melissa LAGHDASS** BAXTER
Questions sur la Limite de Détection pour les tests de stérilité	**Eric LALOUM** BIOMERIEUX
Automatisation des tests endotoxines : du concept à l'implémentation en laboratoire	**Clémentine MASCAUX** GSK VACCINES
Implémentation de la méthode rFC : de la validation à son utilisation en routine au sein d'un laboratoire GMP QC	**Tony DINIS** CEVA

Programme & inscription
www.a3p.org

A3P MICROBIOLOGIE

Sessions Ateliers partenaires

Associates of Cape Cod Int'l., Inc.
Your Endotoxin & Glucan Experts

Update on the use of recombinant cascade reagents in BET – Focus on equivalency
Veronika WILLS

Investigating poor repeatability in BET – Why are my CVs so high?
Veronika WILLS

Testing Difficult Samples
Veronika WILLS

ALLIANCE BIO EXPERTISE
Connected Microbiology

PharmaLab™ : l'IA au service de la lecture des prélèvements environnementaux

Milieux de culture : pourquoi une même formule peut-elle donner des résultats différents ?

Isolats environnementaux et microorganismes indésirables dans l'industrie pharmaceutique

Que se cache-t-il derrière les tests de fertilité des milieux de culture ?

BIOMÉRIEUX

Spectrométrie de masse : comment vous assurer de la fiabilité et reproductibilité de vos résultats d'identification bactérienne et fongique pour maitriser votre environnement industriel ?
Viviane LEFEBVRE & Valérie MONNIN

Comment l'innovation portée sur le design des boites de Petri peut-elle améliorer la réponse aux contraintes de "DATA INTEGRITY" via son intégration dans un software dédié au monitoring environnemental ?
Christophe ARLIAUD, Christophe EMONARD & Jean-Louis JOUVE

ENDONEXT, à chacun son automatisation
Sylvie GENOUX-AUBERT

charles river

Quels sont les clefs d'un monitoring environnemental efficace et pertinent ? Démonstration live d'un outil de suivi de tendance conforme aux Data Integrity
Constance DESMARRE & Yann PUIGMAL

La révolution de l'identification fongique !
Yann PUIGMAL & Sébastien VACHER

Pourquoi devriez-vous implémenter un test de stérilité rapide ? Exemple d'une méthode d'ATP amplifiée
Arnaud DECOURT & Olivier SAVOYE

Comment détecter précocemment des biofilms avec le test LAL et un outil de suivi de tendance ?
Yann PUIGMAL & Olivier SAVOYE

Comment valider un test de stérilité rapide en 4 mois ? Exemple d'une méthode d'ATP amplifiée
Cédric BIANCHI-AMORETTI & Yann PUIGMAL

ECOLAB

Sterility testing in isolator and validation of HPV decontamination cycle with biological indicator
Chris BERRIDGE

Tests d'efficacité des désinfectants : la nécessité d'une méthodologie harmonisée et présentation de la méthodologie Validex
Denis STREITT

L'équilibre parfait pour la désinfection sporicide : une formulation améliorée de peroxyde d'hydrogène à 1,5 % équilibre H&S, efficacité et compatibilité des matériaux
Nora MENECEUR & Denis STREITT

STERIS
Life Sciences

Disinfecting bad bugs
Daniel KLEIN

Testing disinfectants is hard
Daniel KLEIN

Comment mieux désinfecter vos isolateurs ?
Frédéric BAR & Sylvie REBOUL

Exposition

ALBHADES / ALLIANCE BIO EXPERTISE / ANIOS- AN ECOLAB COMPANY / ASSOCIATES OF CAPE COD / BIOMERIEUX / BIOQUELL - AN ECOLAB COMPANY / BRUKER FRANCE / CARSO LSEHL / CHARLES RIVER / CONFARMA / DEVEA / ECOLAB / EUROFINS BIOPHARMA PRODUCT TESTING / FUJIFILM WAKO CHEMICALS EUROPE / GROUPE ICARE / INDICIA PRODUCTION / INTERSCIENCE / MERCK / MESALABS / PROTAK SCIENTIFIC / RAPID MICRO BIOSYSTEMS / SGS HEALTH SCIENCE / SKAN / STAXS / STERIS / SUEZ ANALYTICAL INSTRUMENTS / SYMBIOSE ENVIRONNEMENT / TERANGA GROUPE

Programme & inscription
www.a3p.org

ScanStation

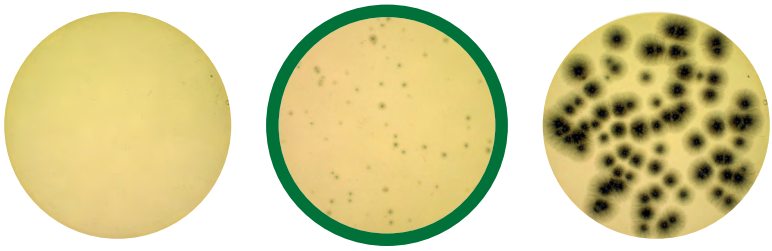
Station d'incubation et de comptage en temps réel

Digitalisez vos **boites de Petri**

DATA INTEGRITY | 21 CFR PART 11 | AUDIT TRAIL

Obtenez des **résultats anticipés !**

Suivi en temps réel des analyses et résultats anticipés **dès 45 heures** au lieu de 5 jours pour *Aspergillus brasiliensis* sur gélose Sabouraud



1 h | **45 h** | 5 j

interscience

Pourquoi et comment faire une caractérisation thermique d'un produit avant lyophilisation ?

Antoine BABIN - Biopharma Technologies France
antoine.babin@biopharmatech.fr

Lors des étapes qui précédent la lyophilisation d'un produit, il est important de le caractériser au mieux. Selon sa nature, sera effectuée toute une batterie d'analyses qui permettront d'identifier sa taille, sa forme, sa charge, sa concentration, sa structure, son activité ; ou toute autre information qui permettra de le comprendre dans ses moindres détails.

La règle d'or en lyophilisation est de ne jamais ajouter d'ingrédient si son intérêt, pendant le cycle de lyophilisation, n'a pas été clairement déterminé. La caractérisation thermique contribue à la compréhension du comportement du produit pendant le cycle de lyophilisation..

1. Pourquoi faire une caractérisation thermique du produit ?

La lyophilisation consiste en un processus de sublimation de l'eau. Par nature donc, l'eau doit être solide, donc congelée avant d'être sublimée. Mais quid du soluté ! Les normes en vigueur imposent des critères cosmétiques au gâteau lyophilisé. En gros, le produit lyophilisé doit ressembler à une poudre bien compacte, si possible adhérente aux parois blanches, etc.
Si le soluté n'est pas solidifié, l'image que j'aime employer est de considérer le soluté comme un échafaudage que nous aurions emprisonné dans la glace sans préalablement l'avoir boulonné ; si je retire la glace, alors mon échafaudage s'écroule.

Aspect correct

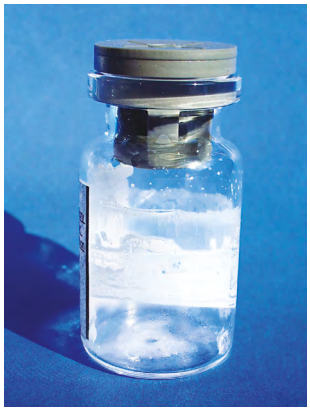
Aspect non conforme/ écroulé

⇢

En lyophilisation, cet effondrement (collapse) arrive généralement lorsque le produit dépasse une certaine température lors de la phase de séchage primaire, c'est-à-dire la phase où l'on va retirer l'eau de solution. Si je ne connais pas cette température, spécifique au produit, alors il sera difficile de déterminer la température idéale d'étagère et la pression de travail qu'il faudra utiliser pendant le cycle de lyophilisation. En effet, il est communément accepté que la pression de travail idéale en enceinte de lyophilisateur se situe entre 20 et 50% de la pression de vapeur en surface du gâteau de lyophilisation. Cette pression de vapeur est dépendante de la température ; sans connaître cette dernière, il est difficile de déterminer la pression idéale. CQFD ! En d'autres termes, c'est comme avoir un GPS dans sa voiture, sans avoir d'adresse à lui renseigner !

Notons également qu'un gâteau de lyophilisation bien constitué, non écroulé, aura aussi une incidence sur l'efficacité du séchage secondaire et l'extraction de l'eau dite liée du produit. Il est possible aussi de noter, en cas d'effondrement, une légère coloration du lyophilisat due aux réactions de Maillard, disons une légère caramélisation du produit, ce qui n'est pas souhaité évidemment.

2. Quelles températures faut-il caractériser ?



Idéalement nous cherchons à savoir à partir de quelle température dans le produit nous risquons d'observer un effondrement du gâteau de lyophilisation. Autrement dit, quand et pourquoi le soufflé au fromage va se dégonfler à la sortie du four !

Il faut définir 3 températures : la **température eutectique T_E**, la **température de transition de glace Tg'** et la **température d'effondrement (Collapse) T_C**.

La T_E définit exclusivement un produit cristallin et la Tg' caractérise un produit amorphe. Nul n'est besoin de connaître précisément la différence entre cristallin et amorphe. Cependant et pour utiliser une autre image, si je me fais livrer une palette de briques bien rangées chez moi, l'ensemble est cristallin ; je pousse les briques dans mon jardin, l'ensemble est amorphe même si individuellement chaque brique reste cristalline.

Par expérience, moins d'un produit sur 100 que nous analysons dans notre laboratoire présente une caractéristique cristalline donc une T_E ! Notons au passage que souvent, les termes "température eutectique" sont utilisés pour parler de la température critique ; ce qui constitue dans la majorité des cas, une erreur de langage puisque nous devrions parler plutôt par défaut, de Tg' donc de température de transition de glace !

3. Doit-on parler de fonte eutectique ou d'écoulement visqueux ?

Si le produit est cristallin, et par conséquent une T_E a été définie, alors, si la température à cœur de produit dépasse la T_E pendant le séchage primaire, nous parlerons de fonte eutectique.

C'est l'exemple de notre échafaudage qui va s'écrouler brutalement. Le produit ressemblera sans doute à un caramel en fond de puits, avec probablement des gouttelettes en bord de contenants au-dessus du niveau initial de remplissage, signe d'une ébullition partielle pendant le cycle.

Si le produit est amorphe, cas le plus probable, alors une Tg' a été définie et nous parlerons d'écoulement visqueux. Le produit va s'attendrir avec la température qui augmente, un peu comme le ferait un morceau de pâte à modeler que l'on étire; elle va s'étendre progressivement jusqu'à éventuellement rompre. Le produit présente alors des réductions de diamètre non régulières sur l'ensemble du cake par exemple.

Lorsque l'on mesure une Tg', selon la méthode et l'équipement, on peut avoir une légère variabilité. Soit, on prend en compte le moment où je sens que la résistance de ma pâte à modeler commence à céder (onset), soit le moment où je ne sens plus de résistance de la pâte mais qu'elle continue à s'étirer sans rupture (offset). Le plus souvent, l'analyse nous propose une mesure de Tg' "midpoint", c'est-à-dire entre onset et offset. Quoi qu'il en soit, il est important de noter en ce qui concerne un produit amorphe, que s'il y a un effondrement, alors il se produira nécessairement après la valeur de Tg' analysée. Donc, et ce afin de pouvoir définir la température d'effondrement la plus élevée possible (pour pouvoir travailler à la température d'étagère la plus élevée possible), il est préférable d'accompagner l'analyse de Tg' par une analyse supplémentaire.

Il s'agit de déterminer la température d'effondrement T_C qui sera nécessairement équivalente ou plus élevée que la Tg', afin de ne pas se priver de la possibilité de gagner quelques °C pendant le cycle, sans toutefois affecter la qualité du gâteau de lyophilisation.

4. Quelles sont les différentes méthodes de caractérisation thermique ?

Afin de déterminer la nature du produit (T_E ou Tg'), la méthode la plus commune est probablement la DSC (Differential Scanning Calorimetry). La DSC mesure le flux de chaleur "in & out" d'un échantillon sur une plage de températures par rapport à un échantillon référence, le plus souvent vide. De nos jours, la modulated DSC "mDSC" sera généralement préférée à la DSC. La mDSC permet de générer des rampes de températures avec une ondulation régulière ce qui permet de différencier les transitions thermiques réversibles (transition de glace) des non-réversibles (fonte eutectique). La mDSC permettra donc de dissocier des évènements thermiques au sein du produit qui ne seront pas observables en DSC classique. La mDSC permet de fait de séparer des événements concomitants; observables par exemple avec l'histidine, le mannitol ou la glycine.

Une publication de Biopharma Technology Ltd (BTL), DSC vs mDSC**, compare entre autres les résultats d'analyses d'un aliquot

⇢

de 20µL d'une solution [1] de Mannitol 5% à 50.49mg/ml et d'une solution [2] mixte de Mannitol 2.5% à 25.24mg/ml + Glycine 2.5% à 25.55mg/ml. L'analyse des deux solutions a été réalisée sur une mDSC TA instruments Q100 d'une part et une station DSC450 Linkam avec contrôleurs LNP96 et T96 d'autre part.

L'analyse est conduite selon le protocole suivant :

Etape 1
Rampe de 20°C/min jusqu'à -70°C, puis 5 min de stabilisation à -70°C
Etape 2 : rampe de 5°C/min jusqu'à 20°C

En ce qui concerne l'analyse mDSC, la modulation est de 3°C/min.

Step	Ramping rate °C/minute	Limit temperature °C	Hold Time (minutes)
1	20	-70	5
2	5	20	0
3*	Modulations @ 3°C/minute (mDSC only)		

L'analyse mDSC de la solution (1) mannitol, montre un seul événement de cristallisation sur la ligne de flux de chaleur non réversible (non reversing heat flow) à -26.5°C avec un pic à -23.6°C puis une fonte du solvant à -2.6°C (*Figure 1*). Tandis que son analyse en DSC450 montre un événement de cristallisation à -25.3°C avec un pic à -24.2C puis une fonte du solvant à -3°C (*Figure 2*). Ce qui est tout à fait comparable.

	Method	mDSC	DSC450
A	Crystallisation Onset (°C)	-26.5	-25.3
	Crystallisation Peak (°C)	-23.6	-24.2
B	Solvent Melt (°C)	-2.6	-3.0

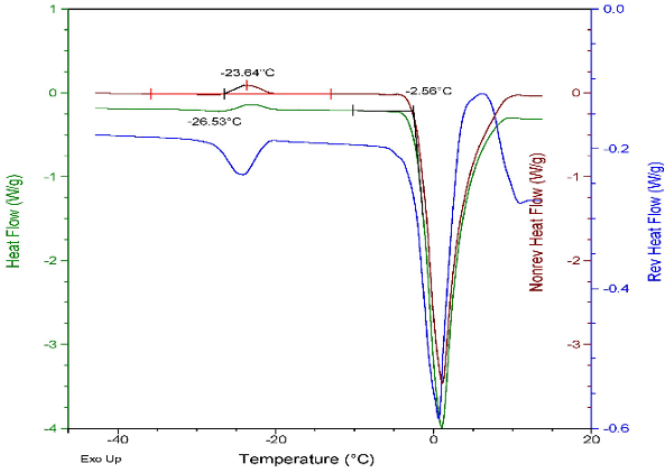


Figure1. 5% mannitol analysé en mDSC montrant une cristallisation (A) et une fonte du solvant (B)

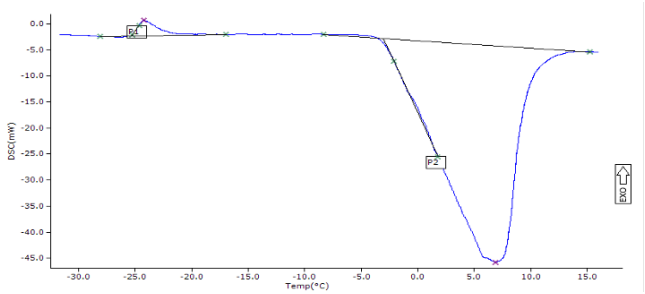


Figure2. 5% mannitol analysé avec la station DSC450 stage montrant une cristallisation (A) et une fonte de solvant (B).

L'analyse mDSC de la solution (2) mannitol/glycine, va révéler plusieurs événements en commençant par l 'onset de la transition de glace de la glycine à -46.3°C ; et donc un changement de mobilité qui va entraîner la cristallisation de la glycine à -43.8°C. La transition de glace du mannitol démarre ensuite vers -34.8°C puis sa cristallisation à -34.1°C. La DSC450 révèle seulement les deux événements de cristallisation à -43.7°C et -33.5°C respectivement, événements presque concomitants aux 2 transitions de glace, les rendant très difficilement observables.

Method	mDSC	DSC450
Glass Transition Onset (°C)	-46.3	Not observed
Glass Transition Mid (°C)	-43.3	Not observed
Crystallisation Onset (°C)	-43.8	-43.7
Crystallisation Peak (°C)	-40.1	-38.8
Glass Transition Onset (°C)	-34.8	Not observed
Glass Transition Mid (°C)	-33.3	Not observed
Crystallisation Onset (°C)	-34.1	-33.5
Crystallisation Peak (°C)	-30.9	-31.4
Solvent Melt (°C)	-7.4	-6.5

Il existe une troisième possibilité, l'ATD-impédancemétrie (Analyse Thermique-Différentielle et d'impédance). Cette analyse est réalisée sur un Lyotherm, appareil développé par la société Biopharma Process System et le regretté professeur Louis Rey qui a transféré, depuis les années 2000, son activité de lyophilisation au Centre de Ressources Technologiques, Aerial.

L'ATD fonctionne sur le même principe que la DSC mais mesure le différentiel de température au lieu du flux de chaleur. Le Lyotherm permet également de mesurer la valeur d'impédance (Z) ce qui permettra entre autres, d'observer d'autres transitions du produit potentiellement causes de micro-événements tels que des micro-collapses par exemple. C'est pourquoi, nous préférons cette méthode puisque nous en tirerons plus d'informations.

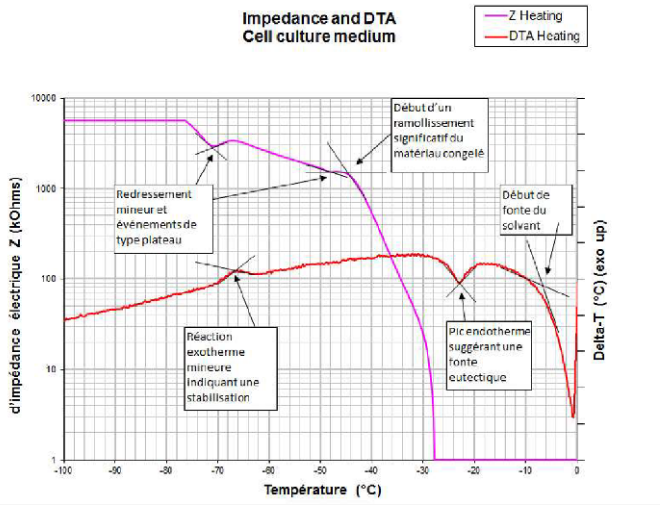


Figure3. Exemple de diagramme de Zsinφ + ATD

Dans cet exemple on observe sur la ligne d'impédance en rose un début de ramollissement de la matière congelée que la ligne d'ATD en rouge ne nous aurait pas permis d'anticiper. De fait il arrive en effet que l'augmentation de la mobilité du matériau détectée en analyse d'impédance apparaisse à une température significativement inférieure à la détection de la température d'effondrement T_c mesurée par cryomicroscopie comme le montre la table ci-après.

...→

Formulation (pourcentage en w/v)	Tzdébut (ºC)	DSC450
NaCl (0.9%) + ASH (0.5%)	-46	-18.4
NaCl (0.9%) + ASH (1.0%)	-64	-20.4
NaCl (0.9%) + ASH (5.0%)	-60	-23.0
Liquide allantoïdien d'œuf (non dilué)	-60	-50
ASH (0.2%) + tréhalose (0.1%) et tampon de phosphate de potassium	-58	-50
ASH (0.1%) + caséine (0.3%) dans du PBS	-59	-50

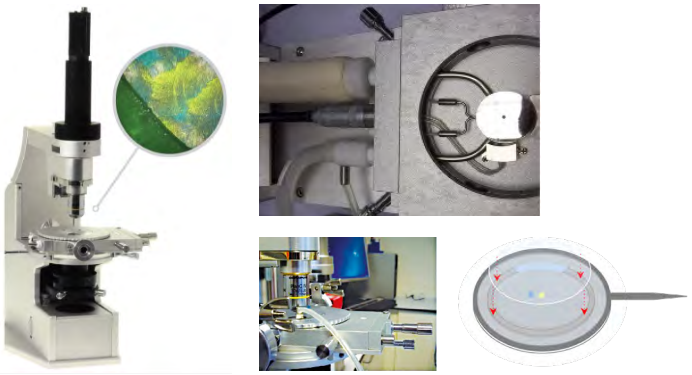
L'objectif étant d'acquérir le maximum d'informations possible sur le produit, c'est pourquoi je préconise l'ATD-impédance et l'analyse Lyotherm plutôt qu'une mDSC ou une DSC classique. Cependant le choix d'une ou des méthodes à utiliser doit prendre en compte les considérations suivantes :

- Une analyse mDSC ou DSC requiert 20µL de produit tandis que l'ATD-impédance nécessite de 4 à 6 mL de produit. Le volume nécessaire pour réaliser l'analyse sera peut-être un critère de sélection au détriment de l'analyse.
- Une fois sec, vous devrez réaliser de nouvelles analyses de caractérisation thermique afin de déterminer cette fois la Tg et non plus la Tg'. Cette transition vitreuse du produit sec vous permettra de déterminer la température critique de stockage de votre produit. Cette analyse est généralement faite par DSC ou mDSC. Ainsi, un seul équipement vous permettra de faire les deux analyses.
- L'ATD-impédancemétrie est par nature la méthode spécifique aux applicatifs de lyophilisation la plus complète et la plus indiquée; notamment si votre dossier de caractérisation thermique doit venir nourrir votre dossier de validation de recette.

5. L'analyse de cryomicroscopie dédiée à la lyophilisation (Lyostat)

On a vu précédemment que la plupart des produits vont généralement révéler une température de transition de glace Tg'. Il sera alors fortement recommandé de compléter l'analyse par une cryomicroscopie; ou plus précisément une cryomicroscopie de lyophilisation (Lyostat), afin de déterminer entre autre la température d'effondrement dite de "collapse", T_c.

Il s'agit d'observer sous une lame mince, une gouttelette de produit, cette lame est placée dans une cellule sous vide sur une platine dont on peut réguler la température. Ainsi il est possible d'observer le front de sublimation d'une couche mince de produit dans une cellule de lyophilisation.



1 à 2µL d'échantillon est déposé sur lame de quartz montée sur un bloc d'argent. On couvre ensuite l'échantillon d'une lamelle de verre au-dessus d'une cale de 70µm comme suit :

L'échantillon est ensuite stabilisé à basse température, généralement -50°C, puis on fait le vide dans la cellule afin de générer de la matière sèche sur le front de sublimation. On augmente alors la température petit à petit jusqu'à entraîner une détérioration du front de sublimation. Cette détection est visuelle, mais il existe maintenant des options logicielles d'analyses d'images qui permettent de déterminer automatiquement la température à partir de laquelle l'altération du front de sublimation apparaît.

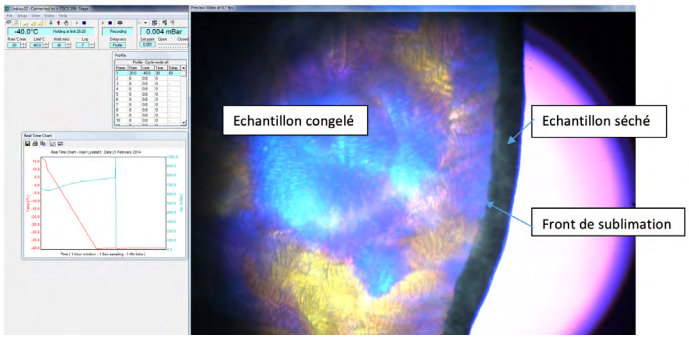


Figure4. Exemple de vue en début d'analyse après stabilisation et mise sous vide

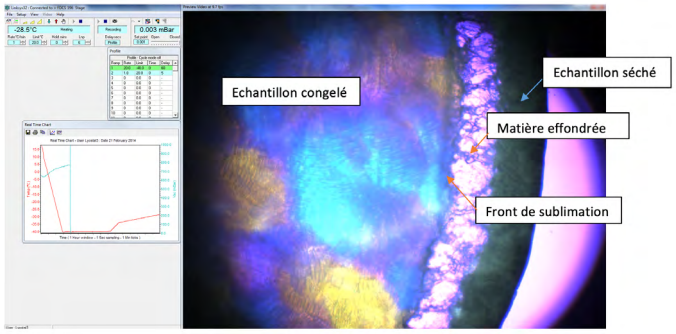


Figure5. Exemple de vue en cours d'analyse avec une altération nette du front de sublimation

Il est possible, depuis l'observation faite en *Figure 5*, de baisser à nouveau la température de la platine afin de rétablir la structure de l'échantillon congelé pour affiner la lecture de la température d'effondrement et ainsi la déterminer avec plus de précision comme présenté sur la *Figure 6*.

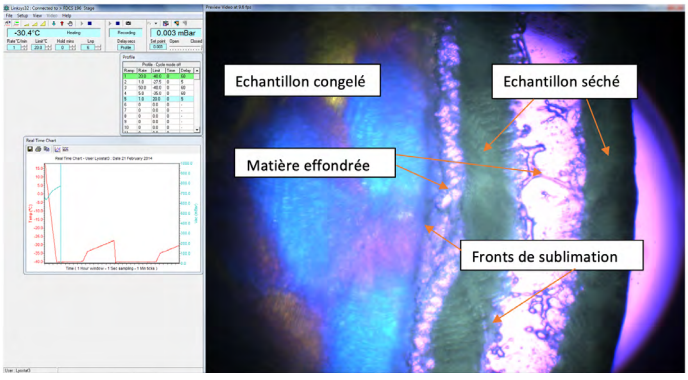


Figure6. Vue d'une stabilisation, effondrement, re-stabilisation et nouvel effondrement.

La cryomicroscopie dédiée à la lyophilisation présente d'autres intérêts. Elle va par exemple permettre de visualiser des micro-effondrements sur des mélanges. Cela peut se passer notamment lors de la fonte eutectique d'éléments cristallins au sein d'une structure amorphe rigide ou inversement, c'est à dire l'écoulement visqueux d'éléments amorphes au sein d'une structure cristalline rigide.

La *Figure 7* montre un mix glucose 1%/mannitol 2% où l'on peut voir des zones de micro-effondrements aux alentours de -41°C soit la température proche de la T_c approximative du glucose.

→

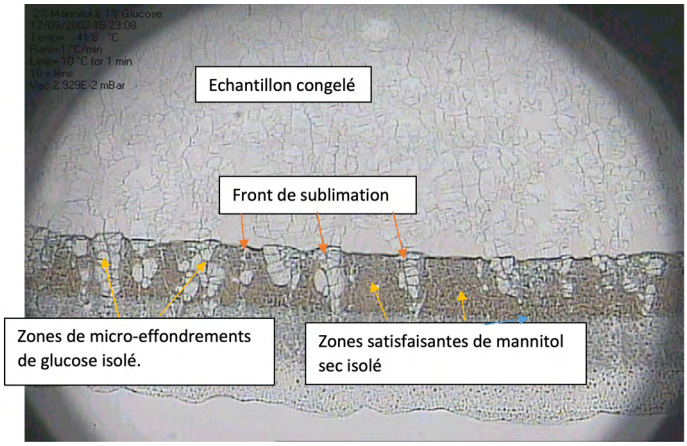


Figure7. Vue d'un mix glucose 1%/mannitol 2% à -41°C

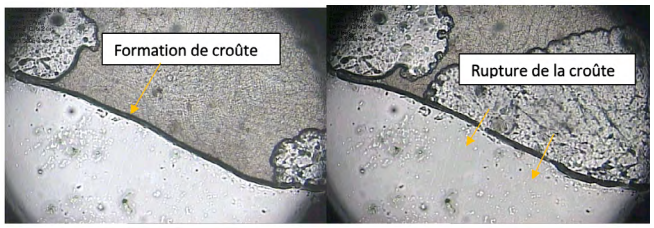


Figure7bis. 2 vues prise à une minute d'intervalle d'un même échantillon après formation de croûte

On pourra aussi observer les formations de croûtes en surface produit également. Comme dans l'exemple *Figure7bis*.

Certaines matières peuvent présenter plusieurs températures critiques et coexister naturellement sous forme amorphe et cristalline, elles peuvent être définies dans la littérature comme étant métastables. Le mannitol présente cette caractéristique et si l'on estime, car très difficilement mesurable, sa température de transition de glace Tg' aux alentours des -32°C, on connaît la température eutectique de sa forme cristalline à -1.4°C. On comprend donc l'intérêt de travailler en lyophilisation avec du mannitol cristallin qui nous permettra d'envisager des températures de travail plus élevées et donc potentiellement une durée de cycle plus courte. Il peut être intéressant dans ce genre de situation d'envisager un "annealing" consistant à :

1) réduire la température sous la Tg',
2) stabiliser,
3) remonter la température entre la Tg' et la T_E',
4) stabiliser.

L'annealing ainsi réalisé doit permettre de privilégier le traitement thermique du mannitol sous sa forme cristalline.
Si votre cryomicroscope est équipé d'un polarisateur alors la formation de la forme cristalline engendrera un changement de couleur observable. Il est donc possible d'utiliser le cryomicroscope afin d'établir ou non l'intérêt potentiel de réaliser un annealing, et ce à des températures différentes.

Dans l'exemple en *figure 8*, il s'agit d'une solution de mannitol d'abord congelée puis ramenée à -5°C.

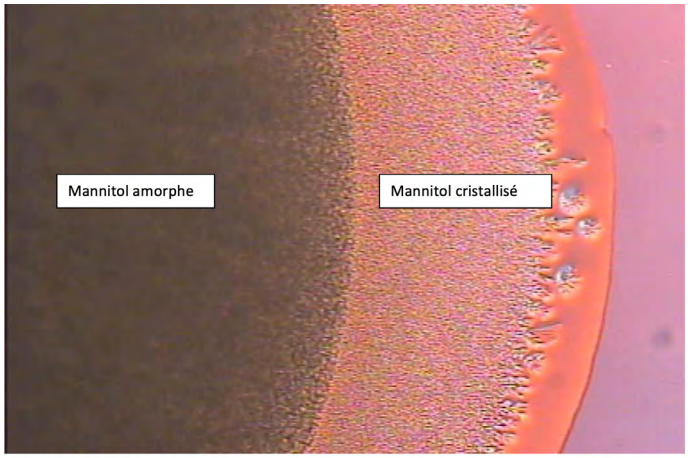


Figure8. Vue d'un échantillon de mannitol après annealing à -5°C

Conclusion

Dès lors que vous souhaitez établir une recette de lyophilisation validée, il semble très difficile de ne pas procéder à une caractérisation thermique complète du produit. Sauf à s'astreindre à de nombreux essais fastidieux jusqu'à observer des altérations de vos gâteaux lyophilisés. L'approche consistant à définir préalablement le plus de caractéristiques possibles, pouvant influer sur le comportement du produit en cours de lyophilisation, vous permettra d'anticiper de nombreux écueils à éviter et également d'étoffer votre connaissance et votre maîtrise du procédé.
L'objet de cet article était de présenter les différentes méthodes de caractérisation thermique recommandées. La combinaison idéale pour votre caractérisation thermique consiste je crois à faire une analyse en ATD-impédancemétrie (dans la mesure où vous disposez de suffisamment de produit) suivi d'une cryomicroscopie. Cryomicroscopes qui aujourd'hui peuvent être équipés de station DSC. Ainsi la caractérisation thermique complète du produit permettra d'anticiper de nombreuses non conformités ou écueils et aussi d'avoir un dossier de validation complet et justifié scientifiquement.

Acronymes

ATD-impédancemétrie	Analyse Thermo-Différentielle et d'impédance
DSC	Differential Scanning Calorimetry
T_C	température d'effondrement (Collapse)
T_E	température eutectique
Tg'	température de transition de glace

LYOPHILISATION

Procédé qui consiste à retirer l'eau par sublimation d'un produit afin de le rendre stable et permettre sa conservation.

Les 3 étapes principales de la lyophilisation
1 : Congélation
2 : Sublimation (dessiccation primaire)
3 : Désorption (dessiccation secondaire)

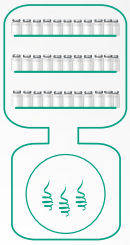
Phénomènes physiques associés au process
• Changement d'état de l'eau
• Transferts de chaleur et de matière

Paramètres critiques
• Température des étagères
• Pression
• Durée de chaque phase du cycle

QUALIFICATION DES ÉCHANGES ÉNERGÉTIQUES

Circuit caloporteur / étagères

Attributs Qualité à tester en qualification d'un produit lyophilisé
• Aspect du lyophilisat
• Taux d'humidité résiduel
• Temps de remise en solution



Spécificités d'un lyophilisateur
• Production de froid à très basse température -65/-70°C
• Production de faibles pressions (vide) 10 à 500 µbar absolus

LES CLÉS D'UNE QUALIFICATION RÉUSSIE

1. Méthodologie de mesure de température

1.1 Utiliser des instruments de mesure performants et adaptés
- Cartographie température produit
- Cartographie température des étagères

ⓘ *Positionnement de la sonde dans le produit et sur l'étagère*

1.2 Utiliser un logiciel de programmation et de traitement des données

1.3 Étalonner ses sondes régulièrement

2. Qualifier les performances du système circuit caloporteur/étagères

Vérifier que les échanges énergétiques au niveau des étagères répondent aux besoins et aux performances.

Cartographie à vide Température de surface des étagères + **Cartographie en charge** Température des étagères & du produit

3. Qualifier un cycle de lyophilisation

Vérifier conformité, homogénéité et reproductibilité de lots technique (placebo)

Cartographie en charge
Dispersion de température du produit au niveau de la charge : écarts température produit intra et inter étagère

4. Validation du produit

Lots commerciaux (sans les sondes de température produit)

5. Maîtrise du process global

CPV : Continuous Process Verification => Suivi et analyse de tendance

POUR ALLER PLUS LOIN...

Les applications d'un mapping thermique ne se limitent pas à celles décrites plus haut ; par exemple, dans le cadre de la maitrise du procédé de stérilisation SIP.

Découvrez tous les Guides Techniques sur www.a3p.org

G.I.C. LYOPHILISATION

© A3P all rights reserved - Copying & distribution Prohibited. Version 2022

TERANGA
GROUPE

L'alliance des compétences au service de la qualité

La holding indépendante TERANGA associe la synergie d'un groupe à la flexibilité d'entreprises à taille humaine. Grâce à leurs offres et expériences complémentaires, ACM Pharma, Cebiphar et UPS Consultants constituent un groupe leader dédié aux industries de santé et cosmétiques.

Votre partenaire expert en développement pharmaceutique et contrôle qualité :

- Contrôle et expertise microbiologiques
- Tests biologiques et biologie moléculaire
- Développement analytique
- Études de stabilité
- Contrôle qualité physico-chimique
- Affaires technico-réglementaires
- Études vétérinaires
- Validation de nettoyage
- Validation qualification des ZAC
- Formation
- Audit et Conseil

Nos sites

Bureaux commerciaux •

Laboratoires •

NOTRE VISION

Être un partenaire fiable et disponible au delà d'une simple relation client-fournisseur.

NOS MISSIONS

Apporter des solutions technique et réglementaires durant les différentes phases de développement et de contrôle de vos produits.

NOS VALEURS

Le sens du service, notre proactivité et l'épanouissement de nos équipes sont des éléments clés de la réussite de vos projets.

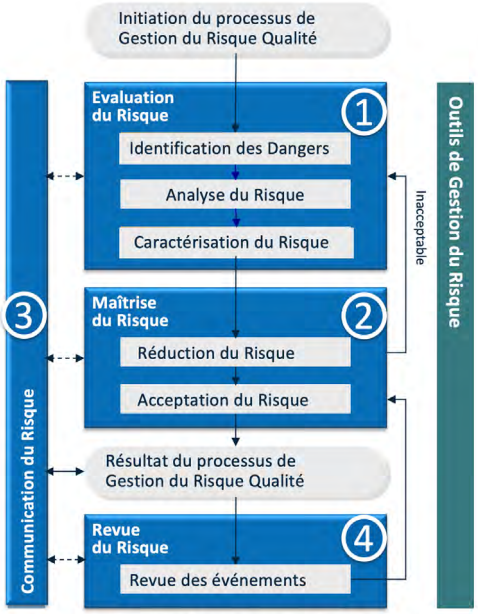
ACM pharma · CEBIPHAR · UPS CONSULTANTS · ACD Swiss

terangagroupe.com

Comment mener une analyse de risque contamination sur un procédé de lyophilisation ?

Par Antoine GONNIER & Christophe MEUNIER - Aktehom
antoine.gonnier@aktehom.com

Le draft de la directive européenne relative à la fabrication des produits stériles -EU GMP Annexe1- publiée par l'EMA en février 2020 s'est enrichie de modifications majeures depuis sa version officielle publiée en novembre 2008. Si une nouvelle section 8. "Production & specific technologies" identifie désormais les requis spécifiques applicables lors de l'utilisation de technologie comme la lyophilisation une nouvelle section 3. est aussi dédiée au Pharmaceutical Quality System (PQS), fondant la maîtrise de la contamination sur le QRM (Quality Risk Management) (cf. ref ICH Q9 R1) et la formalisation de la stratégie de maîtrise dans la CCS.



Source : ICH Q9(R1) Guideline, draft, 18-nov-2021

La mise à jour de l'Annexe 1 répond à une évolution de la maîtrise de la stérilité, qui passe d'une maîtrise de la contamination des environnements de travail en classe A vers des systèmes clos et technologies barrières, déplaçant de fait les préoccupations principales de contamination microbienne et particulaire. Les sources sont multiples et doivent être considérées en relatif les unes aux autres, d'où l'importance du caractère méthodique, systématique et structuré du QRM pour guider l'analyse et fixer les actions de prévention (voire de détection / remédiation).
Si les principes du QRM doivent donc être appliqués (Cf. section 1 Scope "QRM applies to this document in its entirety"), comment l'utiliser pour déterminer et maîtriser les principaux risques de contamination dans un procédé de lyophilisation ?.

1. Rappel des attendus QRM selon l'Annexe 1

Afin de minimiser la contamination microbienne et d'assurer la qualité des produits stériles fabriqués, il sera nécessaire d'avoir un système de gestion des risques sur l'ensemble du cycle de vie du produit.
L'approche doit appliquer les 4 étapes du processus de gestion de risques définies dans ICH Q9. (voir illustration)

La pertinence de la gestion des risques reposant sur la science et l'expérience, chaque fabricant devra disposer d'une connaissance et d'une expertise suffisantes en lien avec les produits fabriqués, les équipements, l'ingénierie et les méthodes de fabrication employés qui ont un impact sur la qualité du produit. L'annexe 1 s'inscrit elle-même dans ce principe, et précise que les limites ou fréquences spécifiques indiquées doivent être considérées comme une exigence minimale. Elles sont indiquées en raison de l'expérience historique

de la réglementation concernant des problèmes qui ont été identifiés précédemment et qui ont eu un impact sur la sécurité des patients.
L'approche doit être systématique et se fonder sur la compréhension, entre autres des interactions entre produit, procédé et équipement : **nous sommes bien au cœur d'une démarche de type Quality by Design.**

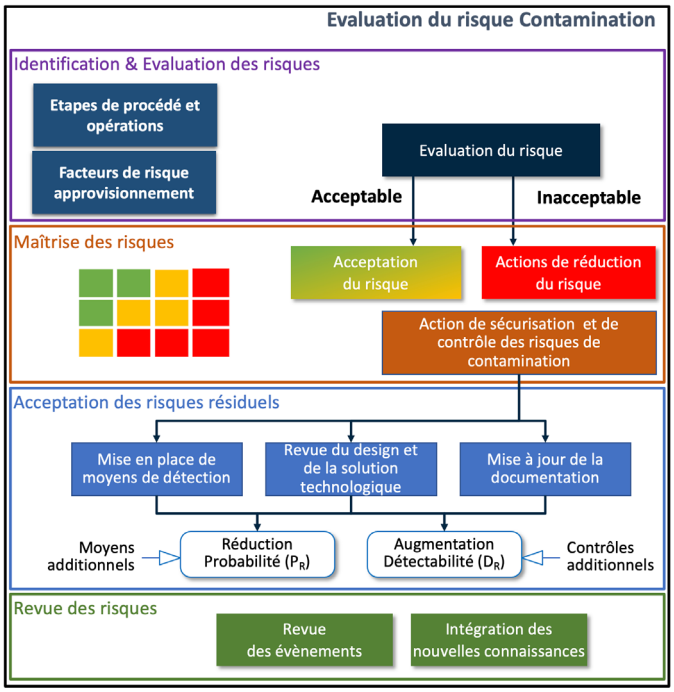
2. Quels types de contamination possibles dans un procédé de lyophilisation ?

Pour illustrer la mise en œuvre du QRM, nous allons nous appuyer sur l'étude d'un cas fréquemment rencontré : la lyophilisation en batch avec chargement de flacons partiellement bouchés et déchargement de flacons bouchés dans le lyophilisateur.
Comme le souligne la norme ISO 13408- 3:2006, étant donné que la lyophilisation est souvent la dernière étape d'un processus aseptique ayant un impact direct sur la sécurité, la qualité, l'identité, l'efficacité, la pureté d'un produit, la lyophilisation est une étape essentielle du traitement aseptique.
Dans le cas de la fabrication de produits stériles injectables lyophilisés, nous cherchons à garantir la prévention de la contamination microbiologique (moisissures, bactéries, virus), particulaire, et par pyrogène dans le produit final.
Le procédé et la technologie de lyophilisation doivent être conçus pour maîtriser les différentes contaminations. En effet, les technologies disponibles actuellement imposent par conception la présence de sources de contamination chimique potentielle à l'intérieur de la chambre du lyophilisateur. On peut citer par exemple : le circuit caloporteur du système de chauffage des étagères ou encore celui du système de bouchage. Une fuite de fluide peut entraîner la génération d'aérosols selon les conditions de température et de pression durant les différentes phases de séchage au sein du lyophilisateur.

La lyophilisation ayant cette spécificité de mettre en œuvre intentionnellement plusieurs utilités (air, azote gazeux, vapeur par exemple…), celles-ci constituent autant de sources de contamination potentielle, que nous pouvons considérer comme des sources de contamination génériques aux utilités en question. Pour sécuriser l'utilisation de ces sources, il sera nécessaire de mettre en œuvre une approche de type QRM dans la conception, l'installation et l'utilisation du lyophilisateur vis-à-vis de ces utilités.
Par ailleurs, si l'on considère l'ensemble des opérations du procédé de lyophilisation, l'opération de chargement/déchargement est celle qui présente un risque important étant donné que le système n'est plus clos. Dans la continuité des opérations de remplissage, l'opération de chargement doit disposer de technologies barrières comme moyen de maîtrise efficace de la contamination. Dans la continuité des opérations de bouchage, l'opération de déchargement requiert un Grade A Air Supply, pour la protection des flacons entièrement bouchés où le bouchon n'a pas encore été serti. Remarquons que le chargement/déchargement est une opération pharmaceutique d'ouverture/fermeture d'une porte, qui même si elle exécutée dans des conditions environnementales de grade A, peut amener à s'interroger si le lyophilisateur peut être considéré comme un système clos, au sens de la définition proposée dans l'annexe 1 : Un système clos est un système dans lequel le produit stérile n'est pas exposé au milieu environnant.
Nous constatons de manière générale, que si la maîtrise de la contamination d'un procédé de fabrication peut s'obtenir par la mise en place de systèmes fermés et/ou de technologies barrières, les spécificités du procédé de lyophilisation justifient pleinement l'application des principes du QRM comme un moyen d'identifier les sources de risques, les évaluer scientifiquement, et finalement mettre en place des moyens de maîtrise adaptés.
Au-delà du cas classique de lyophilisation batch avec chargement de flacons partiellement bouchés et déchargement de flacons bouchés, les autres situations de process (lyophilisation en continu, autre contenant, vrac…) devront faire l'objet d'une mise en application du QRM avec la même approche méthodologique mais en considérant les attributs qualité critiques (CQA) propres à chaque produit final et les spécificités de chaque procédé.

3. Quelle application du QRM sur un procédé/équipement de lyophilisation ?

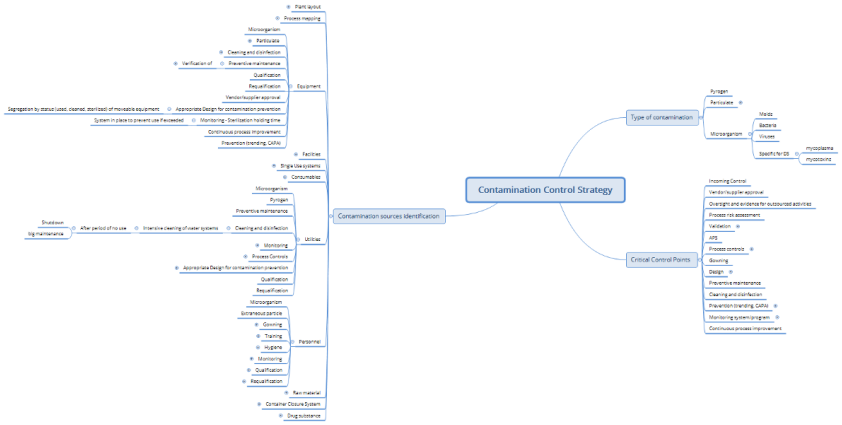
Même si la démarche QbD n'est pas formellement énoncée dans l'annexe 1, la maîtrise des éléments fondamentaux de la contamination (CCS) sur laquelle repose le QbD est lui un requis évoqué à plus de 40 reprises dans le texte. On peut citer par exemple : "la fréquence de la stérilisation (qui sera fonction de la conception du lyophilisateur) devrait être justifiée et documentée dans le cadre de la CCS" ou encore "Toutes les mesures de contrôle en place pour empêcher la contamination microbienne et particulaire entre le remplissage des produits à lyophiliser et la fin du processus de lyophilisation doivent être documentées dans la CCS".
La démarche d'établissement de cette CCS permettra de répondre aux attendus de l'annexe 1 qui fixent les priorités en matière de QRM : en premier lieu, une bonne conception de l'installation, de l'équipement et du procédé de fabrication, puis la mise en œuvre de procédures adaptées, et enfin des systèmes de surveillance qui démontrent que la conception et les procédures ont été correctement implémentées et permettent d'opérer conformément aux attentes.
Pour la mise en application du QRM, la nouvelle section 3 PQS de l'annexe 1 reprend les 4 grandes étapes du processus ICH Q9 : "La gestion des risques est appliquée au développement et au maintien de la CCS, afin d'identifier, d'évaluer [Etape 1], de réduire/supprimer (le cas échéant) et de contrôler les risques de contamination [Etape 2]. La gestion des risques doit être documentée et doit inclure la justification des décisions prises en matière de réduction des risques et d'acceptation des risques résiduels [Etape 3]. Les résultats de la gestion des risques doivent être revus régulièrement dans le cadre de l'amélioration continue de la qualité, pendant les "change control" et pendant les revues périodiques de la qualité produit [Etape 4]".



Pour mémoire, l'efficacité d'un exercice QRM est, au-delà de la méthodologie, conditionnée par la connaissance des spécificités du cas d'application de la gestion du risque. Il s'agit de garantir la systématique de recherche de cas de risque, et de stimuler les experts (ou sachants, SME) dans les prises de position à documenter.
Pour cela, la cartographie générique de la problématique (contamination) et son ajustement au cas (lyophilisation) sont une base de questionnement (Risk Question) qui assure rigueur, exhaustivité, rapidité et pertinence. On sert ainsi le second principe du QRM (le niveau d'effort, de formalisme et de documentation du processus QRM doit être proportionné au niveau de risque).

⇢

Concrètement, le Mind Map que nous utilisons pour la CCS (*voir illustration*) permet de guider une compréhension commune du procédé analysé en termes de risques, et ses sous-branches de challenger les sources de risques et d'orienter la définition des moyens de maîtrise.



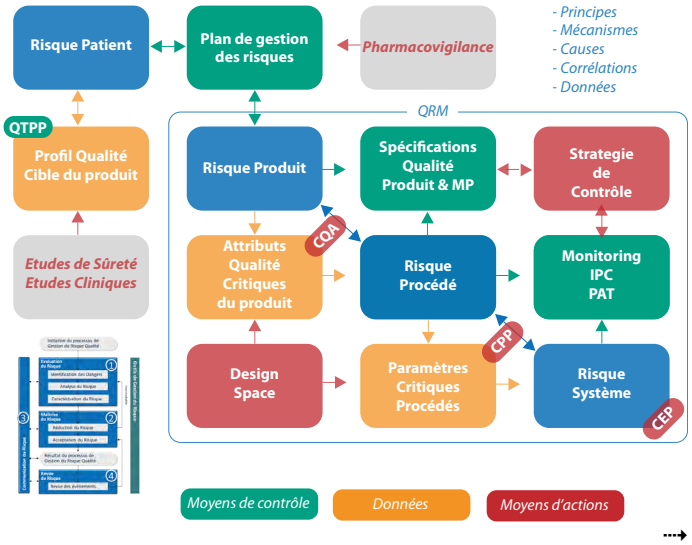
Dans le cadre de la mise en application sur la lyophilisation, on ressort notamment des risques récurrents pouvant être catégorisés en suivant les différentes opérations préparatoires à la lyophilisation, propres à la lyophilisation et après la lyophilisation. Le tableau ci-dessous cartographie les différents risques typiques des équipements de lyophilisation et la nature des contaminations observables.

Au regard des risques sommaires listés dans le tableau,
des modifications de conception des installations pour minimiser les opérations manuelles permettent de réduire les natures de contamination. L'automatisation avant et après la lyophilisation permet d'améliorer la maîtrise des sources de contamination microbienne. La mise en place de robots de chargement pour remplacer l'opérateur ou de système automatisé de chargement et déchargement avec technologie barrière sont des exemples d'automatisation où l'opérateur est tenu éloigné de la zone critique proche de la porte du lyophilisateur.
La fréquence de nettoyage, de stérilisation, des taux de fuite des lyophilisateurs, le travail sur la gestuelle des opérateurs sont des sujets à évaluer dans le cadre de cette cartographie des risques.
Le monitoring environnemental, en identifiant les points les plus à risques et les types de contrôle, est à mettre en œuvre pour rechercher les différentes natures de contamination.
Au-delà de l'étape de lyophilisation, il sera judicieux, pour maintenir les risques de contamination identifiés dans le tableau, de réaliser le sertissage si possible en ligne, immédiatement après le déchargement (éviter les manipulations intermédiaires, de stockage de flacons bouchés non sertis sur des navettes, chariots). Comme évoqué précédemment ces opérations en aval doivent être sous un Grade A Air Supply, pour la protection des flacons entièrement bouchés où le bouchon n'a pas encore été serti.

Position	Opérations	Type d'opération	Nature de la contamination sur le produit			
			Chimique	Microbienne	Particulaire	Endotoxines
AVANT la lyophilisation	Opérations de chargement	Manuel	+	+++	+++	++
		Automatisé	+	+	++	+
PENDANT la lyophilisation	Congélation	Automatisé	+	A évaluer*	+	
	Dessications	Automatisé	+	A évaluer*	+	
	Bouchage	Automatisé	+	A évaluer*	+	
APRÈS la lyophilisation	Opérations de déchargement	Manuel		+	+	
		Automatisé		+	+	

4. Quelles bonnes pratiques QRM pour un résultat efficace et robuste ?

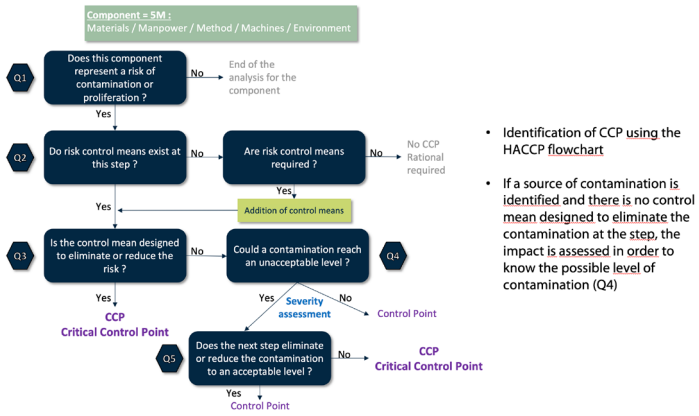
La mise en application du Quality Risk Management (QRM) apporte une approche systématique pour permettre la consolidation de la connaissance sur l'étape de lyophilisation telle que réellement mise en œuvre. L'enjeu est d'identifier toutes les sources de contamination, et de définir les moyens de maîtrise de risques appropriés au contexte, pour, in fine, un très haut niveau de confiance au regard de la sécurité du patient.
Plusieurs mécanismes et principes fondent l'approche par le risque, et il est indispensable de les préserver pour assurer un résultat robuste et des dispositions de maîtrise pertinentes.



L'intégration de l'exercice dans une approche par étape telle qu'illustrée ci-dessous permet de fonder les rationnels de risques au regard de l'impact sur le produit. Tout d'abord, l'exercice de QRM doit s'inscrire dans un contexte plus global de maîtrise des Critical Quality Attributes (CQA) des produits lyophilisés, pour prendre en compte les spécificités des produits traités, en ligne avec les principes du QbD. L'étape d'analyse de risques "procédé" permet de documenter les paramètres critiques (CPP) du process, et les autres conditions opératoires. Cette étape fournit les clés de lecture des risques systèmes, eux-mêmes liés à la mise en œuvre technique du procédé dans un lyophilisateur donné.

⇢

La méthode à utiliser doit être appropriée. D'une manière générale, pour le QRM, nous recommandons d'adapter un outil de base au contexte d'application. Dans le cas de la contamination, il est en général préférable d'adopter, pour base, une approche HACCP. HACCP est définie dans le Codex Alimentarius et reprise par le référentiel ISO 22000:2018 (destiné à la sécurité des denrées alimentaires). Elle apporte de l'efficacité à l'exercice en focalisant la réflexion sur des impacts redoutés. L'identification de CCP (Critical Control Point) permet de cibler les éléments critiques clés à maîtriser. L'illustration ci-après montre la mise en application pour la détermination de la CCS.



La base méthodologique pourrait être l'approche Papillon, si la prise en compte des combinatoires était nécessaire.

Il est important que l'exercice QRM soit alimenté par des données d'entrée disponibles, contrôlées et à jour. Pour mémoire, HACCP rappelle l'importance (étape 5/12) de vérifier que les données d'entrée soient exactes au regard de la réalité du design, du fonctionnement et des pratiques in-situ.
La mise en application du Quality Risk Management (QRM) apporte une systématique robuste pour permettre la consolidation de la connaissance sur l'étape de lyophilisation telle que réellement mise en œuvre. Il est impératif de constituer une (petite) équipe de sachants et pratiquants de l'étape de procédé. Cette équipe doit être maintenue pour toutes les sessions de l'exercice QRM Contamination de la Lyophilisation.
L'exercice de QRM au niveau des équipements de lyophilisation portera notamment sur un travail sur la probabilité de contamination et sur la détectabilité. Comme pour toute analyse de risques pharmaceutiques, il sera primordial de privilégier les actions de maîtrise développant la prévention, en visant la diminution de la probabilité d'apparition de la situation de risque.
L'ensemble des sessions de l'exercice doivent être planifiées et la durée globale allouée peut être utilisée pour limiter les débats d'experts et stimuler la convergence des positions. Si besoin, les points de débat peuvent être hors session et sur base d'une préparation de rationnels.
L'animation des exercices doit assurer un haut niveau de partage, dans la transparence, de la connaissance et de l'expérience sur cette opération. Pour assurer la robustesse de l'analyse, la subjectivité des contributeurs, et les biais lors des estimations de risques, doivent être compensés par des outils adaptés (en particulier des échelles de cotation simples confortant les décisions de réduction du risque), et par un alignement de la perception du risque entre les contributeurs. Cet alignement passe par une composante "formation", pour assurer une même compréhension des fondamentaux du QRM, et par une culture du risque, partagée.

Enfin, la mise en œuvre du QRM doit s'inscrire dans une logique d'amélioration continue. Une fois la CCS définie et adoptée, il s'agit, en s'appuyant sur le système Qualité (PQS), de mettre en place les dispositions pour surveiller la maîtrise de cette étape. Cette surveillance doit notamment s'appuyer sur la vigilance des opérationnels en leur donnant une capacité à détecter des évènements indésirables (déviations, ou évènements "presqu'accident"). Une formation sur l'étape de procédé, mais aussi un partage de l'analyse de risques établie, sont nécessaires.
En synthèse, les Bonnes Pratiques QRM peuvent être rappelées via la check-list ci-dessous.

Bonnes Pratiques QRM . Points à vérifier
La méthodologie et l'outil sont-ils appropriés ?
Les données d'entrée sont-elles disponibles et à jour ?
L'équipe est-elle appropriée ? Les différents rôles (resp de groupe de travail, animateur, garant méthode, sachant,…) sont-ils pris ?
Le cadre (cible, périmètre, contexte, référentiel) est-il bien clair pour tous ?
Les outils (document/template) sont-ils préparés ? Pré-remplis ?
Les sessions sont-elles planifiées ?
L'évaluation sera-t-elle systématique et robuste ? • Formulation de la Risk Question • Liste de dangers ou systématique de recherche • Règles de cotation • Formulation des rationnels
L'effort est-il proportionné ?
Les biais d'appréciation et la subjectivité sont-ils anticipés ? • Culture / formation des participants • Animation

CONCLUSION

Dans le cadre des productions de produits lyophilisés stériles, l'opération de lyophilisation est particulièrement critique en termes de risques de contamination, du fait de l'exposition potentielle du produit à des sources multiples de contamination, et notamment de l'apport de conditions environnementales et non de leur retrait.
Au-delà du requis à venir de la future annexe 1 des EU-GMP, il est évident que l'approche QRM, et la mise en pratique structurée et systématique de l'analyse et de la maîtrise des risques, sont indispensables pour guider l'acquisition et la compréhension de la connaissance des phénomènes à risques durant l'opération de lyophilisation.
Pour mettre en œuvre le QRM, l'outillage de la méthode, la structuration et la capitalisation de la connaissance spécifique de cette opération process, dans le contexte propre à chaque site et atelier, sont des clés à la fois de l'efficacité et de la performance de l'exercice d'analyse de risques, mais aussi de la maintenabilité des livrables.
De nos expériences, il nous paraît important que cette mise en application du QRM soit ajustée et animée dans une démarche de culture du risque patient. Il en va de la confiance que nous aurons dans le maintien de la stérilité des produits, et partant, dans la sécurité du patient. Il s'agit d'éviter les principaux écueils, dont certains ont conduit à la révision R1 de ICH Q9 [draft du 18-nov-2021], notamment quant à la lourdeur inappropriée de l'exercice et la subjectivité des contributions.

Acronymes

CCS	Contamination Control Strategy
EMA	European Medicines Agency
GMP	Good Manufacturing Practices
PQS	Pharmaceutical Quality System
QbD	Quality by Design
QRM	Quality Risk Management
SME	Subject Matter Expert

Références

EU GMP Annex 1 Revision: Manufacture of Sterile Medicinal Products (Draft)
ICH Q9 R1 – draft du 18-NOV-2021
ISO 13408-3:2006(fr) : Traitement aseptique des produits de santé — Partie 3: Lyophilisation
ISO 22000:2018 : Systèmes de management de la sécurité des denrées alimentaires
HACCP : Hazard Analysis and Critical Control Point (Codex Alimentarius CXC 1-1969)

eurofins | BioPharma Product Testing

olegdudko @123rf

AUGMENTEZ VOS CAPACITÉS ANALYTIQUES

Que cela soit en support de vos projets R&D ou au sujet du contrôle qualité de vos produits et procédés, nos équipes vous aident à établir la conformité, l'efficacité et la sécurité de vos produits.

ANALYSES MENÉES SELON LES RÉFÉRENTIELS EN VIGUEUR :

- Contrôle microbiologique des produits non stériles
- Contrôle des produits stériles
- Efficacité de la conservation antimicrobienne
- Titrage des antibiotiques
- Monitoring environnemental
- Identification et caractérisation des micro-organismes
- Conservation sécurisée des produits biologiques
- Évaluation de l'activité des désinfectants

Une expertise technique et scientifique depuis plus de 20 ans

Des laboratoires certifiés BPF (ANSM, ANSES, FDA) et accrédités COFRAC

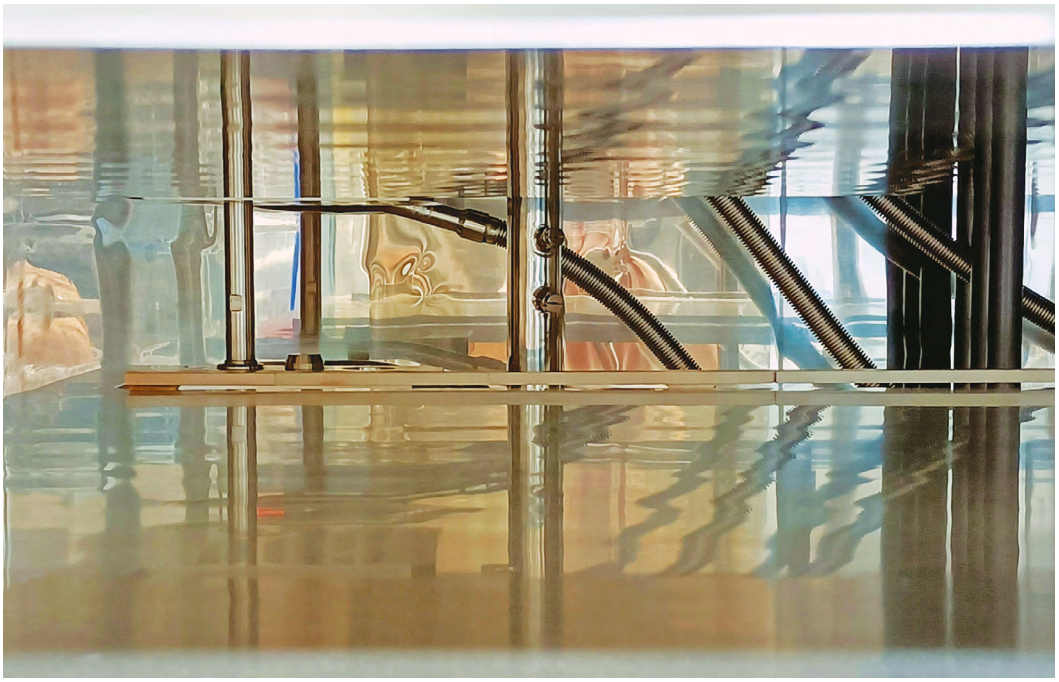
Des équipes expérimentées, flexibles et réactives pour répondre à vos besoins dans les délais impartis

NOUS CONTACTER www.eurofins.fr/pharma/accueil SalesFR_EBPT@eurofins.com

CIP evolution in freeze dryers. Optimize turnaround time & water consumption.

By Xavier GÓMEZ & Pere JOVER - TELSTAR
xgomez@telstar.com

In sterile manufacturing with freeze dryers, CIP process plays an important role to prevent contamination to the product and to comply with current pharmaceutical regulations (CGMPs). Not to mention that a high degree of cleanliness must be secured consistently, batch after batch. It's clear that the technology and recipe being used impacts considerably in the efficiency and effectivity of the cycle, minimizing also the turnaround time and the water consumption.



Flat spray nozzles pointing to trays surface

The validation method of the CIP cycle is typically done by spraying Riboflavin or even salt all over the chamber components, but this is workable only as a coverage test, typically performed during FAT. To assure the cleanability for a specific drug, a swap or rinse test should be performed instead, where specific recipe parameters are then validated. The validation step is not explained in this article.

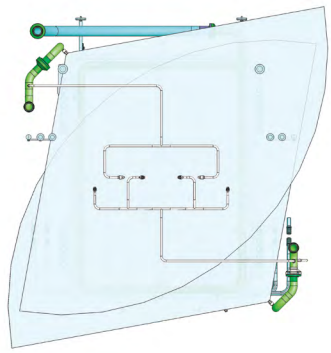
Process Contact Parts (PCPs) may become contaminated during each batch, typically by product spillage during product loading & unloading or by flying powder during subsequent steps (backfilling, vacuum, venting, etc.). Therefore, and according to CGMPs, it is required an effective solution that can also be validated time after time. CIP technology applied in freeze dryers has been demonstrated as a reliable method, as it is an automatic and highly reproducible cleaning method, without the direct intervention of an operator. As there are currently many different solutions installed in freeze dryers from different equipment manufacturers, the final solution may significantly vary from one vendor to the other.

Saving cycle time and reducing the water consumption is not an option anymore, especially with the global alignment of SDGs, concretely SDG 12 (Sustainable Development Goal 12 -Sustainable Consumption and Production-). Thus, Testar has dedicated efforts with the development of an important R&D project obtaining very promising results:

- Reduce CIP cycle time
- Reduce water consumption
- Fulfill GMP and ASME BPE 2019 guidelines
- Improve control of water volume to be utilized during the cycle.

⇢

Freeze dryers are very far away to be a clear tank. The shelves stack on the middle, vertical guides, guiding system linked to automatic loading & unloading systems, flexible hoses, etc. This makes it very challenging to design the optimum cleaning devices to reach with water impact all hidden corners. Also, every project needs a particular analysis with a particular combination of cleaning devices.
Going into the detail, vertical manifolds with static spray nozzles pointing to shelves surface is the best choice to clean them, taking the advantage of the movement of the vertical cylinder.



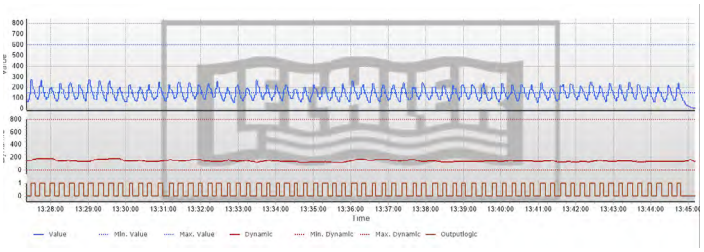
Picture 1 - Theoretical pattern coverage

Static mechanisms and hidden places are cleaned through static nozzles attached to a manifold.

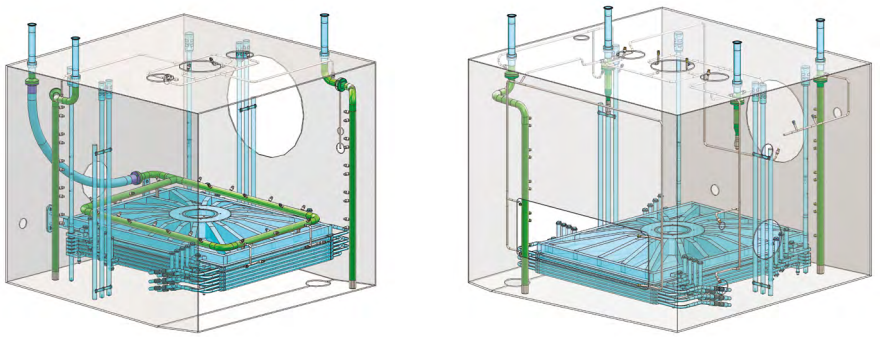
Picture 2 - Example of full cone nozzle pointing to mechanism

The most important improvement has been the change regarding the device to clean the walls. Before the R&D project, walls were cleaned through a special manifold with spray nozzles attached on it. The manifold was fixed to the shelves stack and moved up and down covering the walls area. The main disadvantage of this system is that moving manifold needs a flexible hose to be adapted to the different positions without losing the tightness. Due to the stress of movement up and down, this flexible hose can be a source of cleaning agent leaks. (See picture3)

This solution also implies that the total volume of water is often oversized because it is a result of the time that it takes for the shelves stack to go up and down.
The improvement has been to replace it for constant speed rotatory balls. The balls are activated to clean the walls when the shelves are stacked at the bottom of the chamber, during the time (or water volume) that is strictly required. The main challenge has been the validation of the nozzle rotation to assure that there isn't a blockage during the cycle. This rotation is detected by rotating sensors which are conceived to work in clean tanks. These sensors shall be compatible with SIP conditions.
The sensor measures the spraying intensity of the cleaning device. The rotating phases of the rotation jet cleaner can be recognized in the diagram. The measured value has a minimum and maximum value (switching thresholds). The switching thresholds of the measured value are set so that the measured value is inside the switching thresholds during proper cleaning.
The dynamic value is proportional to the frequency of the spraying cycles. In the event of a possible error, the dynamic value is reduced due to a lack of cycles between spraying and not spraying. This enables them to detect a fault during cleaning.



Picture 4 - Example of a measure of a sensor. Measured value (intensity) in blue. Dynamic value (frequency) in red

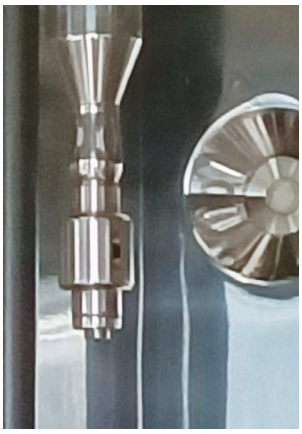


Picture 3 – Old CIP system with a movable manifold (left) and new CIP system with rotary balls (right)

⇢

The sensor (one for each cleaning ball) recognizes correct cleaning when both signals (measured value and dynamic) are between the respective switching thresholds.

Dedicated nozzles have been added to clean the shadows created when the jet impacts the manifolds and guides inside the chamber.
Manifolds have been also improved to fulfill better with GMP & ASME BPE 2019 guidelines. The nozzles are now customized to be directly welded to manifolds and by thus the risk of leaks is clearly minimized.



Picture 5 - Rotatory ball and rotatory sensor
Picture 6 - Connection of nozzles to the manifold ; welded connections

Other changes have focused on external CIP installation. Current CIP is allowing both options of water control: condenser as a tank and direct feeding. Direct feeding is possible thanks to some changes in P&ID, that allows control the volume of water thanks to a flow sensor on the water line before the manifolds (P&ID picture 8). These changes not only allow to reduce time when clients choose direct feeding (saves the time to fill the tank), but also improves the control of water volumes and allows to release alarms in case of low flow rates.

To make it possible to do direct feeding, we adapted our CIP system to a common pressure on our clients' installations. This pressure was reduced from the initial 6 bars to 3 bars. The power of the pump was also reduced significantly.

Another point where efforts were dedicated is the standardization of the cycle receipt for each size of chamber by predefined values to the user. These values were based on internal tests to optimize water consumption.
The use of rotatory balls, the pressure reduction and receipt standardization results on a reduction of the water consumption up to 20%
Below, an example of comparison between two similar freeze dryers of 20m² shelf area before and after the CIP improvements. The total amount of water has been reduced drastically. Also, the cycle time has been reduced by 30 min. Both were tested according to Telstar's riboflavin test procedure.

	Size of Freeze dryer (m^2)	Water consumption (li)	Total cycle time (min) *
Old CIP	20	2500	169**
New CIP	20	1590	139**

** Time till finishing the washing stage, not including the chamber drying time.*
*** The value is including the time of condenser filling for each step, which is very dependent on flow rate at installation site. These values are taken from FAT at Telstar® where flow rates were lower than the typical values available in production plants.*

Conclusions

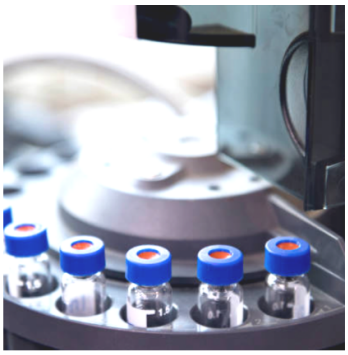
Industrial freeze dryers for sterile production shall integrate an automatic CIP system that is capable of consistently cleaning all internal parts of the chamber and the condenser. How this solution is implemented is vital to determine the quality of the cleaning process, but it will also determine the water consumption and the cycle time. In times where sustainable goals are so important, we should choose the available technologies that are more reliable and efficient. A new technology using rotary spray balls and a smart recipe management, can reduce up to 20% of the total water consumption and minimize the cycle time considerably.

References

1. R&D project in Telstar® (new CIP) 2021
2.ANNEX I GMP 2021
3.ASME BPE 2019
4.Cleaning Validation and its Importance in Pharmaceutical Industry 2010, S. Prabu, Anna University-Tiruchirappalli
5.PS_TechMon13_TheCleaningOfFreezeDryers 2007

Acronymes

CIP	Cleaning In Place
FAT	Factory Acceptance Test
CGMPs	Current Good Manufacturing Procedures
P&ID	Piping and Instrumentation Diagram



CARSO PHARMACEUTIQUE

CONTRÔLE QUALITÉ

DÉVELOPPEMENT PHARMACEUTIQUE

ENVIRONNEMENT

Qui sommes-nous ?

Le Groupe CARSO est un groupe français, **prestataire analytique multi-expertises** (pharmaceutique/cosmétique, eau-environnement, agroalimentaire, hygiène hospitalière,...).

Notre activité pharmaceutique est déployée sur 2 sites : Etablissement pharmaceutique fabricant (ANSM)

- **Le Laboratoire CARSO PHARMACEUTIQUE de Lyon-Vénissieux**, Rhône (69) : Décision n°F17/134
- **Le Laboratoire CARSO PHARMACEUTIQUE de Neuilly-en-Thelle**, Oise (60) : Décision n°F19/111

MICROBIOLOGIE

- Contamination microbienne
- Germes spécifiés
- Essais de stérilité sous isolateur
- Efficacité de la conservation anti-microbienne (Challenge-tests)
- Endotoxines bactériennes
- Identification bactérienne et fongique par spectrométrie de masse, Maldi-TOF
- Analyses des mycoplasmes par qPCR
- Aérobiocontamination et contrôles de surface
- Qualification et monitoring des installations d'eaux (pharmacopées US, européenne, chinoise et japonaise) : prélèvements sur site / collecte et analyses par nos équipes

PHYSICO-CHIMIE

- Contrôle qualité des matières premières, vracs et produits finis selon tous types de pharmacopées ou dossier pharmaceutique
- Qualification et monitoring des installations d'eaux (prélèvements sur site /collectes et analyses)
- Recherche des solvants résiduels
- Recherche des nitrosamines, allergènes, pesticides
- Recherche d'oxyde d'éthylène et dioxane
- Recherche des métaux lourds par ICP/MS (ICHQ3D)
- Recherche d'amiante

DÉVELOPPEMENT PHARMACEUTIQUE

- Développement et validation de méthodes (ICHQ2R1)
- Études de stabilité
- Études des contaminants
- Validation de nettoyage
- Recherche et dosage de nitrosamines
- Recherche et dosage d' allergènes
- Analyse de pesticides
- ICP MS, MET, MEB, MALDI-TOF, ORBI-TRAP, LC-MS-MS, LC-Q-TOF-MS, DSA-TOF-MS, GC-MS haute définition

ENVIRONNEMENT

Analyses air, surface, eau

TROUBLE SHOOTING

NOS POINTS FORTS

- **Certifications BPF/cGMP**
- **Activité des laboratoires 24h/24 et 7j/7**
- **Prélèvements et collectes d'échantillons sur site**
- **Importantes plateformes analytiques de haut niveau équipées des dernières technologies (ICP-MS, ICP-AES, LC-MS-MS, GC-MS-MS, HRMS, MET, séquenceurs haut débit, ...)**
- **Accréditations COFRAC NF EN ISO 17025***
- **Eligible Crédit Impôt Recherche**

* 1-1531. Liste des sites et portées d'accréditation disponible sur le site www.cofrac.fr

GROUPE CARSO

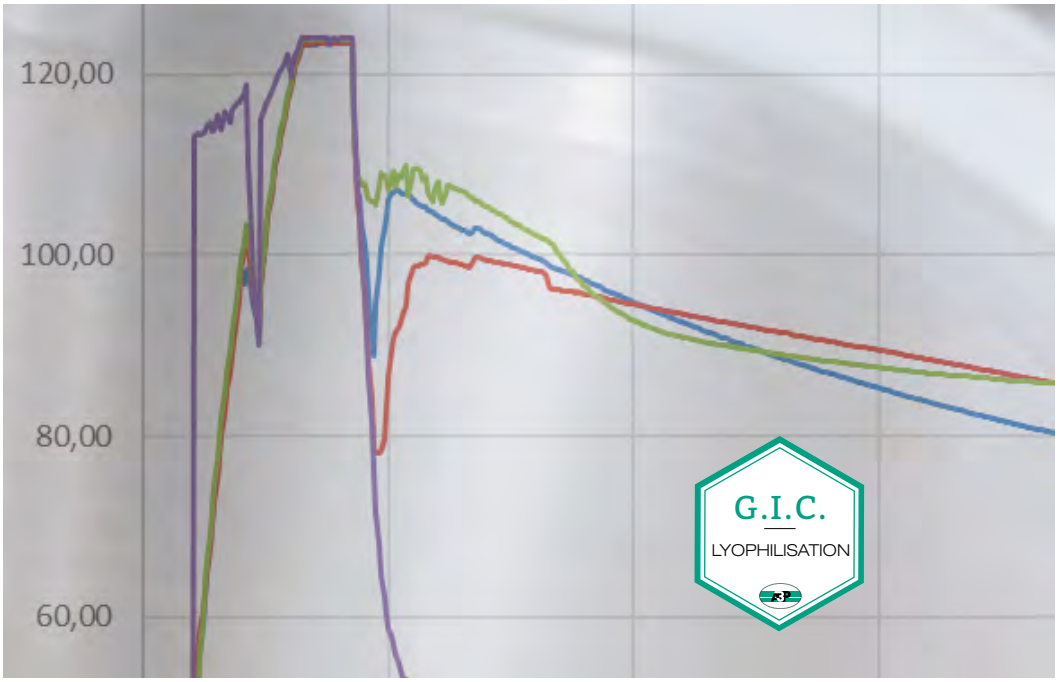
GROUPE CARSO
4 Avenue Jean Moulin 69200 Vénissieux
Tél :+33 (0)4 26 10 17 25
+33 (0)4 26 22 11 00
Mail : carso-pharma@groupecarso.com
Site : https://www.carso-pharmaceutique.fr

Bilan de l'enquête des bonnes pratiques de stérilisation en lyophilisation.

Par GIC Lyophilisation A3P

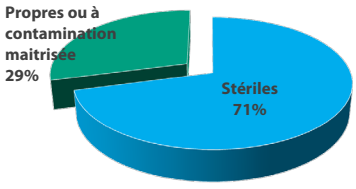
La stérilisation peut représenter une étape cruciale dans la préparation d'un cycle de lyophilisation.

A la suite des travaux réalisés sur le mapping thermique, le GIC LYO a proposé, en 2021, de réaliser une enquête auprès des industriels afin d'établir un état des lieux des pratiques actuelles de stérilisation en place chez les utilisateurs de lyophilisateurs. Parmi les professionnels du réseau A3P, 24 sociétés / laboratoires ont répondu au questionnaire. Ce large éventail de réponses a permis d'obtenir une image représentative des pratiques de stérilisation en place chez les utilisateurs de lyophilisateurs dans le monde industriel.

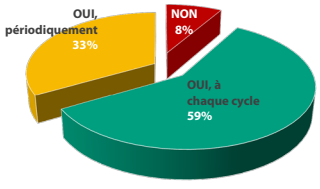


1. Fréquence de stérilisation par rapport au statut des produits lyophilisés

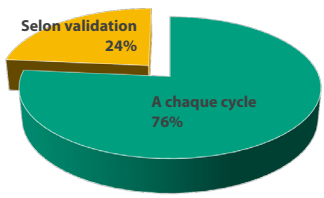
Statut des produits lyophilisés



Stérilisation des lyophilisateurs

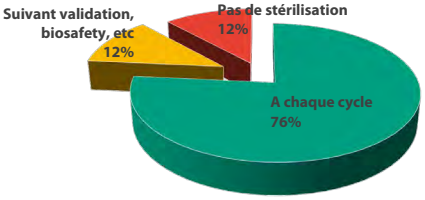


Fréquence de stérilisation pour laboratoires produisant des produits stériles



Selon validation : campagne de production, arrêts techniques, etc…

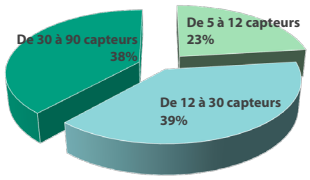
Fréquence de stérilisation pour laboratoires produisant des produits propres ou contamination maitrisée



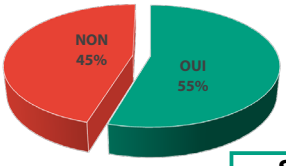
→

2. Qualification du procédé : gestion des capteurs

Nombre de capteurs utilisés

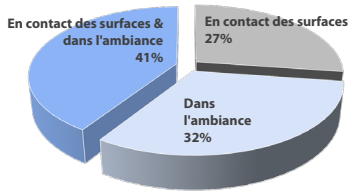


Positionnement de capteurs sur toutes les étagères ?



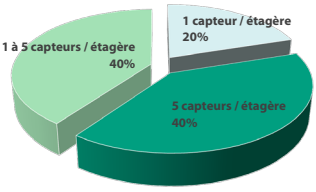
Si oui,

Positionnement dans le lyophilisateur



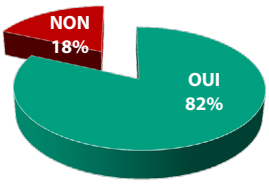
Nombre de capteurs par étagère

(ex : 3 ou 4 sur étagères du haut & bas et 1 sur les autres)

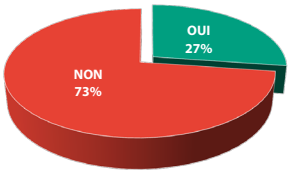


3. Validation des résultats

Utilisation d'indicateurs biologiques



Utilisation de capteurs de pression



Ces résultats vont servir de base de travail au GIC Lyophilisation, dont l'objectif est la parution d'un guide en lien avec les bonnes pratiques de stérilisation dans le monde de la lyophilisation.

BWT CHANGE THE WORLD sip by sip | BWT BEST WATER TECHNOLOGY

L'avenir du contrôle microbiologique en ligne

BWT AQU@SENSE MB

La qualité de l'eau purifiée et de l'eau pour préparations injectables, parfaitement démontrable à chaque instant.

BWT présente l'AQU@Sense MB, un système fiable, éprouvé et précis de mesure en continu des TCC (total cell count) grâce à la cytométrie de flux.

bwt-pharma.com

Being First Means Doing Something No One Else Has Ever Done Before... We Do That A Lot.

We have a long history of advancing Endotoxin and Glucan testing technologies that make a difference.

PYROSMART® NEXTGEN

Recombinant *Limulus* Amebocyte Lysate

A History Of Firsts!

1st To Introduce An Animal Free, Recombinant LAL Reagent

1st Large Scale IVF Program To Introduce Horseshoe Crabs Into The Wild

1st To Establish BET Contract Testing Services

1st BET Company Licensed By FDA

Advance your laboratory's Endotoxin and Glucan detection capabilities into 1st place today.

Ensuring A Healthy World

Associates of Cape Cod Int'l., Inc.

Your Endotoxin & Glucan Experts

www.acciuk.co.uk ▪ (+44) 151.547.7444

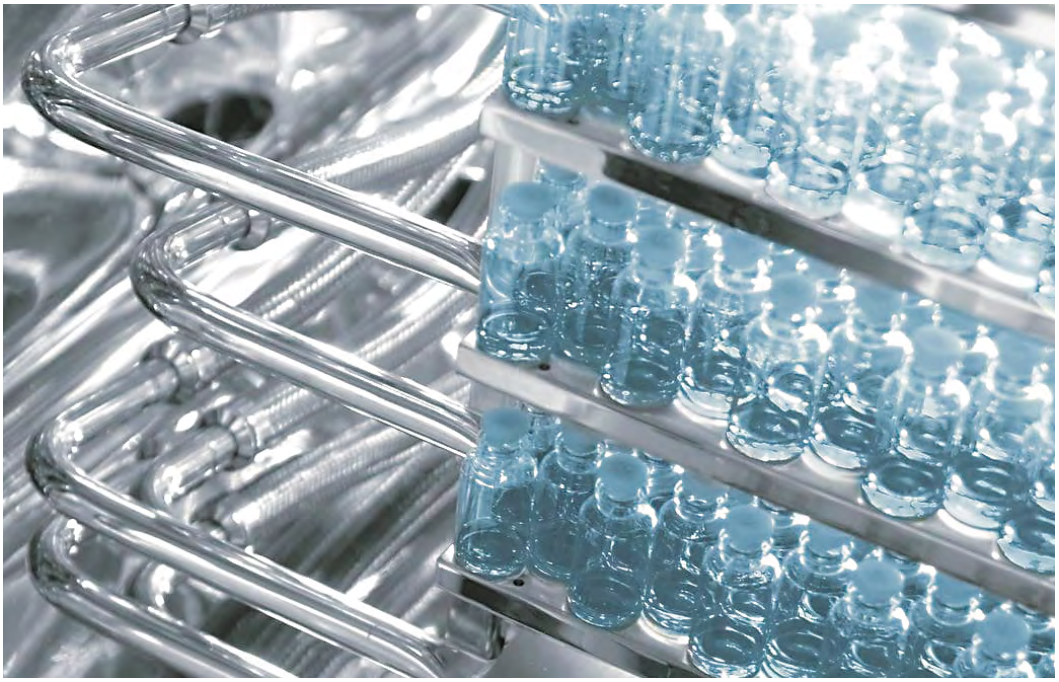
Associates of Cape Cod, Inc. - a Seikagaku Group Company

MKT#21-076

Basiques en simulation de procédés aseptiques et lyophilisation.

Par Olivier CHANCEL - Boehringer-Ingelheim
olivier.chancel@boehringer-ingelheim.com

L'objet de cet article est de revenir sur quelques aspects propres à la simulation des procédés aseptiques de lyophilisation. Il est certain que même si beaucoup a été dit sur le sujet, il est tout aussi certain que tout n'a pas été dit. Pas plus dans cet article d'ailleurs ! Les thèmes généraux des simulations de procédé aseptique ne sont pas tous repris laissant ce soin à la copieuse littérature. En revanche, les thèmes pouvant être plus parlants pour la lyophilisation sont davantage détaillés.



Enfin, et pour montrer que nous ne sommes jamais au bout, un retour d'expérience est présenté au sujet du risque de faux négatifs lors des simulations de lyophilisation aseptique.
Le lecteur constatera que l'adverbe « habituellement » est très souvent choisi dans cet article. C'est bien sûr à l'analyse de risque tant attendue par la future annexe 1 des BPF européennes de justifier les pratiques mais que la roue n'a pas besoin d'être continuellement réinventée lorsque nous faisons tous le même métier… Le milieu nutritif est traité et mis en œuvre d'une manière qui simule le plus possible le procédé de fabrication "normal" avec la même exposition à une contamination possible provenant des opérateurs, de l'environnement, de l'équipement et des surfaces… que celle pouvant survenir lors de la fabrication de lots commerciaux en routine.
Les unités remplies de milieu et serties sont ensuite incubées dans des conditions prescrites et inspectées à la recherche d'éventuelles preuves de croissance microbienne.
Une méthodologie bien spécifique est suivie pour simuler adéquatement et mettre les procédés aseptiques sous contrôle. Comme tout un chacun sait, un test de simulation de procédé aseptique n'est qu'une représentation ponctuelle des capacités d'un système de traitement aseptique. Elle ne garantit pas que les produits pharmaceutiques fabriqués sur la même ligne à d'autres moments auront le même niveau de qualité microbiologique. Cependant, grâce à la simulation des procédés associés à la surveillance environnementale, à la qualification du personnel, à la qualification des cycles de stérilisation, il est possible de maintenir l'asepsie au cours des procédés de lyophilisation à un niveau démontré faute de ne pouvoir le faire à un niveau validé...

1. Fréquence de simulation de procédé

Que ce soit dans le cadre de l'actuelle Annexe 1 des Bonnes Pratiques de Fabrication Européenne ou de celle future, au moins trois simulations de procédé consécutives réussies sont habituellement

⇢

attendues pour démontrer la performance aseptique d'une nouvelle installation ou ligne de remplissage.
Les tailles extrêmes d'unités sont habituellement envisagées alternativement tous les 6 mois. Les plus petites et plus grandes unités sont considérées comme les pires cas en raison de la difficulté de manipulation (vitesse la plus rapide, plus d'interventions) et de l'exposition maximale de l'unité ouverte (vitesse de remplissage la plus lente). Ces extrêmes couvrent tous les autres contenants de tailles intermédiaires dans cette plage mais il se peut que certains volumes intermédiaires soient également des « pires cas » comme par exemple l'instabilité ou la fragilité des petites unités étroites. La simulation du procédé est effectuée dans un délai de ± 1 mois de la limite prévue.

2. Sélection du milieu de culture

Le milieu de culture apporte les nutriments à un éventuel contaminant de nature microbienne pour se multiplier en développant un trouble.
Quel que soit le procédé à simuler, un milieu de culture remplace le produit à fabriquer et suit de fait un procédé de production identique.
La très grande majorité des simulations de procédé sont réalisées pour rechercher la présence de contaminants environnementaux donc en aérobiose, le trypcase soja restant le milieu de prédilection là où le thioglycolate est préféré pour simuler les procédés dit anaérobies.
D'autres milieux de culture peuvent éventuellement être choisis s'ils sont justifiés. Ce peut être le cas par exemple de milieux spécifiques à la croissance de souches technologiques dans l'industrie du vaccin même si la vocation première des simulations reste la détection de germes de l'environnement.
Certaines variantes au trypcase soja peuvent être envisagées par ajouts d'additifs. L'addition d'un indicateur coloré virant lorsque le milieu est contaminé permet, en plus d'un trouble et/ou d'un sédiment, de faciliter la lecture lorsque le conditionnement n'est pas parfaitement transparent ou lorsque le milieu est gélosé. Il est vrai que ce dernier cas ne s'applique pas lors de la production de produits lyophilisés. De même, les producteurs de Pénicilline peuvent ajouter une bêta-lactamase pour inhiber les dernières traces d'antibiotique présentes dans une installation à l'issue du nettoyage et de la stérilisation.
Le milieu de culture est stérilisé soit par le procédé simulé lui-même par exemple une filtration stérilisante, soit antérieurement au procédé simulé, par exemple par autoclavage.
La sélection des milieux doit démontrer la capacité à favoriser la récupération d'un large spectre de micro-organismes. Les performances des milieux sont évaluées à l'aide de méthodes Pharmacopées avec des souches dites Pharmacopée et avec des isolats environnementaux.

3. Simulation de procédé aseptique

Une simulation de procédé ne se limite pas à simplement « simuler » le procédé, il le challenge. Il n'est donc pas une véritable simulation à l'identique mais une simulation en conditions défavorables.
La simulation aseptique de lyophilisation commence avant même la lyophilisation proprement dite puisque certaines caractéristiques du remplissage aseptique ont un impact direct sur la lyophilisation. Il est donc courant de considérer que le procédé aseptique, et donc sa simulation, commencent dès l'étape de filtration stérilisante et intègrent toutes les opérations effectuées jusqu'à ce que les unités soient serties. Cela inclut nécessairement la désinfection des lignes de répartition et la stérilisation du lyophilisateur. Bien que cet article s'intéresse plus particulièrement à la lyophilisation, il passe tout de même en revue les principales étapes.
Chaque simulation est conçue pour couvrir toutes les opérations de traitement normales et inclure certaines des interventions possibles qui pourraient de manière réaliste être rencontrées lors des opérations de remplissage de routine. Les aspects suivants doivent être pris en considération. La simulation couvre toutes les étapes de traitement normales, depuis l'opération de préparation jusqu'au lavage extérieur des unités et à l'inspection visuelle.

Quelques étapes de lyophilisation habituellement simulées sont listées ci-dessous :

- Demi-bouchage des unités,
- Transfert des unités demi-bouchées depuis la ligne de répartition vers le chargement des plateaux,
- Chargement des plateaux dans le lyophilisateur,
- Etape de congélation,
- Etape de sublimation,
- Etape de séchage secondaire,
- Cassage du vide,
- Bouchage dans le lyophilisateur,
- Déchargement du lyophilisateur
- …

a. Fabrication

Bien que non central dans cet article, deux points méritent quelques précisions :

- Note 1. *Même si d'autres qualités d'eau pourraient être préférées, la plupart des milieux sont fabriqués avec de l'eau pour préparation injectable compte tenu de l'usage des installations, et des caractéristiques des produits qui y sont fabriqués. En cas de doute, il est proposé de bien reprendre le Guideline on the quality of water for pharmaceutical use du 20 juillet 2020, EMA/CHMP/CVMP/QWP/496873/2018.*
- Note 2. *Même si ce n'est pas propre aux produits fabriqués dans les installations, il est tout de même d'usage, après dissolution selon les recommandations du fournisseur, de chauffer le milieu jusqu'à 80 ± 5°C pour tuer les éventuels mycoplasmes. Ce chauffage est évidemment superflu lorsque le milieu a déjà fait l'objet d'une stérilisation préalable, par exemple par irradiation.*

b. Filtration stérilisante

Le milieu de culture liquide est stérilisé par filtration stérilisante.
Il est rappelé, si besoin, qu'une simulation n'a nullement vocation à valider un filtre stérilisant mais à simplement produire un milieu stérile. Cela signifie qu'il n'est pas utile, et de toute façon peu probable voire impossible, de mettre en œuvre les mêmes filtres stérilisants qu'en routine, les mêmes paramètres de filtration ou de test. Cela étant dit, la simulation du procédé participe à son niveau à la détermination de la durée de répartition maximale d'un point de vue aseptique.
Après la stérilisation, le milieu de culture circule au travers du train d'équipements comme s'il s'agissait d'un lot de production réel. Toutes les procédures de routine utilisées dans la fabrication des lots commerciaux sont suivies, telles que pour les connexions aseptiques, les tests d'intégrité des filtres, les échantillonnages, les contrôles d'environnement en cours de procédé…

c. Remplissage aseptique

L'objet de cet article n'est pas de revenir une énième fois sur la simulation de remplissage aseptique. La littérature est foisonnante. Ceci ne signifie pas qu'elle ne soit pas critique, loin s'en faut. Les versions de l'annexe 1 des BPF européennes se suivent et se ressemblent. La philosophie des simulations de procédé aseptique reste inchangée. Rappelons quand même quelques incontournables.

1/ Cadence de remplissage

Du fait d'interventions réputées plus difficiles et d'une plus grande instabilité, le remplissage des plus petites unités se fait habituellement à la vitesse la plus rapide alors que les plus grandes unités sont remplies à la vitesse de fonctionnement la plus lente pour une plus longue exposition.

⇢

2/ Durée de remplissage

La durée totale du cycle de traitement, donc d'exposition du matériel stérile, doit être similaire ou supérieure à celle normalement rencontrée lors des répartitions en routine.

Les essais de simulation devraient être d'une durée suffisante pour inclure un nombre représentatif d'interventions courantes, qui pourraient se produire au cours d'une opération de remplissage d'un lot commercial. Lorsqu'ils font partie du fonctionnement normal, les changements de tenues, les changements d'équipe, les pauses, etc. doivent être simulés. Si toutes les interventions normalement attendues ne sont pas couvertes, réduire la vitesse de remplissage est une fausse bonne idée car, même pour de grosses unités, même pour des unités à grand col, la vitesse devient alors trop lente pour être représentative des conditions normales de fonctionnement. Dans ce cas-là, il ne reste qu'à prolonger la simulation en remplissant davantage d'unités ou d'interrompre momentanément le remplissage.

3/ Volume de remplissage

Les unités ne doivent surtout pas être remplies à leur volume de remplissage normal, particulièrement dans le cas des simulations avec incubation aérobie. En effet, plusieurs problématiques s'associent :

- Un espace de tête suffisant doit permettre d'apporter l'oxygène nécessaire à la croissance des germes de l'environnement.
- Dans le cas de la lyophilisation, les unités peuvent être de toutes petites dimensions et pour faciliter la détection d'une éventuelle contamination microbienne, un volume minimal de milieu doit être rempli.
- Enfin, c'est l'asepsie du procédé qui est testée et pas le procédé de lyophilisation lui-même. De fait, le paramètre pertinent à considérer est bien le volume totale de l'unité et pas tant le volume de solution médicamenteuse ou celui du futur cake.

Pour résumer, un volume compris entre 50 % et 80 % du volume total de l'unité est habituellement suffisant pour peu qu'il soit supérieur à 2 mL car il permet par retournement de mouiller toute la surface interne tout en permettant la détection visuelle d'un sédiment ou d'un trouble.

4/ Bouchage partiel

Le bouchon, fendu, doit être partiellement enfoncé à l'issue du remplissage, comme en conditions commerciales, pour permettre de simuler le procédé de lyophilisation à venir.

d. Lyophilisation

1/ Stérilisation du lyophilisateur

Dans le cadre de la simulation du procédé aseptique, il n'y a pas de spécificité liée à la stérilisation du lyophilisateur mais 2 notes sont utiles :

- Note 1. *Une ou plusieurs simulations conformes ne se substituent jamais à la qualification préalable du cycle de stérilisation du lyophilisateur. Donc, le cycle de stérilisation est d'abord validé puis la lyophilisation peut faire l'objet d'une simulation aseptique.*
- Note 2. *Il est habituellement attendu de simuler trois fois initialement puis une fois périodiquement le délai maximum entre la stérilisation et l'usage du lyophilisateur. En routine, ce délai doit naturellement être inférieur à celui simulé. Cela étant dit, une autre approche*

⇢

NEW 200 EVO
LAVEUR DE PIÈCES DE CONTACT

SCANNEZ LE QR CODE POUR EN SAVOIR PLUS !

- Développée pour le lavage de pièces en contact avec le produit, du solide au stérile
- Conception compacte et modulaire, compatible avec les flux de production nouveaux ou existants
- Lean Project Management pour réduire les délais, de la commande à la validation
- Volume de chargement maximum sur encombrement minimum
- Disponible en 3 tailles différentes (600, 1000, 1400 litres) pour optimiser les lots de chargement
- Traçabilité totale des processus et stockage des données, conformément aux exigences cGMP et FDA
- Résultats de nettoyage garantis et reproductibles
- Accessoires personnalisés pour maximiser la productivité en minimisant les temps d'arrêt

www.iwtpharma.fr | contact@tecniplast.fr

Suivez-nous sur IWT Cleaning Excellence

iwt CLEANING EXCELLENCE

consistant à uniquement considérer l'intégrité du lyophilisateur avant son chargement et donc avant son ouverture est possible dans l'esprit du chapitre 4.1.4 des recommandations PIC/s 007.

2/ Chargement des plateaux

Attention, opération à haut risque ! Les unités partiellement bouchées sont convoyées vers le système de chargement des plateaux pour être chargées dans le lyophilisateur. Les plateaux doivent être complètement remplis puis transportés dans le lyophilisateur. Même si cela devient plus rare, le remplissage des plateaux ainsi que leur chargement dans les lyophilisateurs peuvent être manuels. Il est évident qu'un chargement manuel est une opération à risque élevé d'un point de vue aseptique là où le risque est faible si l'opération est automatique ou modérée si l'opération est semi-automatique.
Que ces interventions soient manuelles ou automatiques, elles restent des opérations aseptiques et de leur maîtrise parfaite dépend la stérilité du produit et donc le succès de la simulation. Dans tous les cas, ces opérations doivent être raccourcies le plus possible.
Il est habituellement attendu de simuler la durée maximum d'ouverture du lyophilisateur, trois fois initialement puis une fois périodiquement. Puisque le délai devrait être maximal lorsque le lyophilisateur est rempli au maximum il est donc attendu de remplir le lyophilisateur non nécessairement au maximum de sa contenance mais à sa plus grande taille de lot. En routine, ce délai doit naturellement être inférieur à celui simulé. Il en est de même pour le nombre d'ouvertures et de fermetures du lyophilisateur si le chargement est discontinu.
Quand c'est techniquement possible, il est possible de remplir une partie des unités de milieu de culture en haut, au centre et en bas mais ce n'est pas un prérequis. En effet, et compte tenu de la turbulence régnant dans la totalité de l'enceinte du lyophilisateur lors du cassage du vide, les éventuels contaminants sont disséminés dans la totalité de la chambre.
Le positionnement des sondes de température du lyophilisateur dans certaines unités reste pour le moment une opération manuelle risquée et doit nécessairement être simulée. Il ne viendrait à l'idée d'aucun industriel sérieux de commercialiser les unités ayant contenu ces sondes. Il devrait en être naturellement de même lors des simulations : les unités ayant contenu les sondes ne doivent pas être incubées. Cela en chagrinera sans doute un ou deux mais pour peu que le retrait de ces unités soit procéduré lors de la lyophilisation des lots commerciaux, cela devrait très bien se passer également lorsque les mêmes unités sont retirées lors des simulations… quels que soient les interlocuteurs du moment !
L'opération de chargement du lyophilisateur est l'une des plus critiques. Sa maîtrise en routine lors de la production des lots commerciaux et donc l'adaptation du protocole de test lors des simulations sont donc cruciales.

3/ Congélation, dessiccation, bouchage, déchargement

Les unités partiellement bouchées sont chargées dans le lyophilisateur préalablement nettoyé et stérilisé.
La simulation d'un procédé aseptique a pour objet de challenger l'asepsie d'un procédé en se rapprochant des conditions normales… sans que cela ne limite la croissance d'éventuels germes. Pour rappel, la version actuelle de l'annexe 1 des BPF européennes précise que "The process simulation test should imitate as closely as possible the routine aseptic manufacturing process." Dans le cas de la lyophilisation, force est de constater que « as closely as possible » prend beaucoup de sens tant les conditions prévues pour les lots commerciaux ne sont pas favorables à la croissance de contaminants. C'est une très bonne chose lors des productions commerciales mais ce n'est paradoxalement pas le cas lors d'une simulation. Pour détecter un possible contaminant, les paramètres simulés à chaque étape peuvent être très différents de ceux de routine.
Les propositions actuellement disponibles de la future Annexe 1 des BPF européennes semblent indiquer que, dans la philosophie générale du document, une analyse de risque doit être réalisée pour chaque étape de la lyophilisation pour ainsi sélectionner les paramètres de simulation les pires d'un point de vue aseptique : "The process simulation procedure for lyophilized products should represent the entire aseptic processing chain under specified, documented and justified conditions representing worst case operating parameters." Les paragraphes qui suivent peuvent aider à documenter cette analyse de risque.
Même si la lyophilisation est couramment utilisée pour conserver des microorganismes, la congélation sans précaution avec un cryoprotecteur par exemple, puis la dessiccation entraînent la mort de beaucoup de micro-organismes. C'est gérable quand l'objectif est justement de conserver un grand nombre de micro-organismes en se disant qu'il en restera toujours assez à la fin du procédé pour l'usage que l'on souhaite en faire. Dans le cas d'une simulation, l'esprit est radicalement différent, puisque personne ne peut prédire que les rares contaminants, s'ils existent, seront suffisamment nombreux et vaillants à la fin du procédé pour se multiplier à nouveau dans le milieu et ainsi rendre détectable une possible faille aseptique.

Lors de la lyophilisation d'un lot commercial, la finalité est de retirer toute l'eau à l'issue d'une étape de congélation puis de dessiccations primaire et secondaire. Lors d'une simulation, ce n'est pas le cas. En effet :

- Sans précaution, une congélation à une température inférieure à -50°C détruit certains micro-organismes présents et interdit leur multiplication et donc leur détection dans le milieu de culture. Une simulation à température ambiante est acceptable. Néanmoins, un léger abaissement de la température peut être simulé autour de 5°C pour peu que le milieu ne soit jamais congelé au risque de conduire à un éventuel faux négatif.
- Le milieu doit conserver son eau selon les recommandations du fournisseur pour permettre la croissance d'un contaminant potentiel. Une phase de vide doit nécessairement être simulée afin que le lyophilisateur soit en pression négative par rapport à la pression atmosphérique mais sans jamais provoquer l'ébullition et donc l'évaporation du milieu de culture. Un vide partiel à 200-400 mbar pendant 6 heures est un bon compromis.
- La température lors de la dessiccation secondaire peut atteindre +40, +50 voire +60°C en routine. De telles températures sont néfastes à la survie des contaminants. La température ne doit donc pas dépasser la température ambiante. Les fournisseurs de milieu recommandent habituellement des températures de conservation inférieures à 25°C.
- Après simulation des étapes de congélation et dessiccation, le vide, même partiel, doit être cassé, éventuellement avec de l'azote si l'atmosphère dans l'unité lyophilisée doit rester inerte. La lyophilisation est en effet destinée à des molécules fragiles et la présence d'oxygène peut altérer leurs conservations. Lors d'une simulation, l'azote masquerait probablement la croissance d'éventuels contaminants. La parade est simple puisqu'elle consiste à simuler le cassage du vide par de l'air comprimé filtré.

Si une atmosphère azotée n'est pas recherchée en routine, il faut tout de même rester vigilant. En effet, le vide est alors cassé avec de l'air comprimé filtré et nous pourrions penser que tout va bien… Cela serait sans compter le léger vide maintenu dans la chambre du lyophilisateur lors de l'opération de bouchage complet des unités pour justement maintenir les bouchons en position fermée jusqu'à l'étape du sertissage : voir retour d'expérience.

Rappelons-nous que cette étape de cassage de vide est plus à risque que beaucoup le pensent. L'apport d'un gaz dans une chambre sous vide est très turbulent et entraîne globalement un flux du gaz vers

l'intérieur des unités. En routine, le cassage du vide est plus long et plus violent que lors des simulations compte tenu du degré de vide plus important à combler. Afin de permettre à la simulation d'être plus discriminante, il est conseillé d'une part de répéter plusieurs cassages et descentes en vide suffisamment longtemps pour reproduire la durée réelle en routine et d'autre part de ne pas simuler le bouchage des unités avant le cassage du vide mais après aération, sous un vide léger, pour permettre l'introduction d'éventuel contaminants.
Après les étapes de lyophilisation proprement dites, les unités sont complètement bouchées à l'intérieur de la chambre avant d'ouvrir la porte de déchargement.

e. Sertissage, nettoyage extérieur
Les unités lyophilisées bouchées sont déchargées de manière aseptique de la chambre de lyophilisation pour être serties puis éventuellement transportées vers une machine de décontamination externe pour le lavage de la surface externe des unités. L'opération de sertissage est habituellement considérée comme la dernière étape du procédé aseptique devant être simulée.
Bien que toujours considérée comme aseptique, cette opération n'est habituellement pas à haut risque puisque le maintien des bouchons est habituellement assuré par un vide résiduel prévenant la réouverture des unités sous le flux de classe A.

f. Suivis environnementaux
La surveillance environnementale, y compris les particules non viables, les sédimentations, les surveillances actives de l'air, les écouvillons, les contrôles de surface et du personnel sont réalisées lors des simulations tout comme lors des productions commerciales en particulier lors des étapes de répartition aseptique, de chargement et de déchargement du lyophilisateur.

4. Interventions à simuler

Un procédé de simulation inclut tous les risques de contaminations microbiologiques pouvant avoir lieu sans toutefois intégrer des interventions inacceptables d'un point de vue aseptique à proximité du lyophilisateur comme l'arrêt d'une centrale de traitement d'air ou une inversion des pressions d'air ou la présence d'un nombre excessif d'intervenants. Le véritable risque serait alors que la simulation soit conforme ou même que 3 simulations soient consécutivement conformes. Cela ne traduirait aucunement qu'une intervention périlleuse est validée mais que les expérimentateurs ont eu beaucoup de chance trois fois consécutivement ou plus. Les simulations ne sont donc ponctuées que par les interventions raisonnables prévues par les procédures.
Pour vérifier la robustesse du procédé aseptique, la simulation de procédé inclut les activités qui se produisent et/ou qui sont suivies pendant les opérations normales de répartitions et de lyophilisation des unités, telles que diverses interventions non planifiées, telles que bris d'unités, fuite de fluide, renversement d'unités, les réparations par le personnel de maintenance… ou interventions planifiables telles que nombre maximum de personnes, les changements d'opérateurs…

5. Inspection avant incubation

Même si cette inspection n'est pas requise d'un point de vue de la simulation aseptique, elle est pourtant indispensable. Les unités étant souvent en verre étiré pour les produits lyophilisés, les risques de casse avant le déchargement du lyophilisateur sont trop importants pour courir le risque d'incuber des unités ébréchées risquant de se contaminer ultérieurement, donc en dehors de la simulation aseptique, mais de causer malgré tout l'échec de la simulation du procédé aseptique…

La norme d'inspection et les critères utilisés pour le rejet sont presque les mêmes que ceux utilisés lors des productions de routine. L'unité qui serait exclue lors d'une production de routine, en particulier en raison d'une perte d'intégrité, comme un mauvais bouchage ou des unités fissurées ou ébréchées… n'est pas considérée pour l'incubation. La raison de la mise au rebut de toutes ces unités est nécessairement documentée et par-dessus tout, cette pratique doit être attendue selon les mêmes critères lors des productions de lots commerciaux.
En revanche, toutes les unités remplies présentant des défauts esthétiques, mais pas de perte d'intégrité, par exemple griffures au sertissage, et même si elles seraient rebutées lors des productions de lots commerciaux, sont incubées et évaluées dans le cadre de la simulation.
Cette inspection avant incubation est en général l'occasion de mettre les unités à l'envers ou de les secouer pour permettre au milieu de mouiller la totalité de la surface intérieure de l'unité.

6. Incubation

Les unités sont transférées en enceinte climatique, monitorée et sous alarme à température contrôlée aussi rapidement que possible après la fin du procédé de remplissage.
S'il y a un délai de plus de 24 heures entre les étapes de remplissage et d'incubation, le temps d'incubation devrait être compté à partir du début de l'incubation.
Toutes les unités remplies de milieu sont habituellement incubées en position inversée dans des plateaux/boîtes appropriés pour permettre au milieu de culture de mouiller toute la surface interne des unités et des bouchons.
Les unités remplies de milieu sont incubées dans un incubateur

approprié et qualifié pendant au moins 14 jours. Les unités sont ainsi incubées pendant au moins 7 jours à 22,5 ± 2,5 °C, suivis de au moins 7 jours supplémentaires à 32,5 ± 2,5 °C. Ces conditions d'incubation sont très classiques, pour ne pas dire habituelles, mais d'autres conditions d'incubation sont envisageables pour peu que la durée d'incubation ne soit pas inférieure à 14 jours et que la recherche de microorganismes mésophiles soit privilégiée en termes de température.
Les tests de fertilité sont réalisés selon les méthodes de la Pharmacopée, et l'inclusion d'organismes environnementaux, pratique déjà généralisée, est prévue dans la future annexe 1 des BPF Européennes.

7. Inspection post incubation

La lecture des unités incubées se fait a minima après 14 jours d'incubation. Beaucoup procèdent à une lecture intermédiaire à 7 jours. Certains vont même jusqu'à inspecter 100 % des unités tous les jours ou à un intervalle de 1, 2, 3, 7, 9 ainsi qu'à la fin de la période d'incubation bien sûr. Ces lectures manuelles intermédiaires fréquentes restent évidemment limitées à de petites tailles de lot. Les lectures automatiques restent marginales à ce jour.
La lecture manuelle reste un exercice difficile, justifiant un personnel bien formé et entraîné pour détecter des niveaux de contamination faibles. L'usage de défauthèques visant à évaluer le personnel dans le cadre des démarches d'habilitation et de délégation est devenu courant.
Dans tous les cas, l'inspection reste supervisée par un microbiologiste.

8. Interprétation des résultats du test et des échecs de la simulation d'un procédé

Toute détection d'unité positive s'accompagne nécessairement d'une investigation très rigoureuse quels que soient les résultats de l'analyse d'impact. Le contaminant est alors isolé et identifié jusqu'à l'espèce. La connaissance du contaminant est précieuse pour orienter l'investigation et se tourner par exemple vers une origine humaine ou l'eau ou l'environnement ou tout simplement pour comparer la souche avec celles rencontrées récemment dans l'environnement aseptique du lyophilisateur, de la ligne de répartition… Il est également primordial de déterminer avec précision le moment où a eu lieu la contamination pour la relier à une intervention ou à un événement et ainsi de se rapprocher d'une cause directe voire d'une cause racine. Il est de fait nécessaire de faire le suivi du lot et donc des interventions ou des arrêts durant le lot et un contrôle environnemental dans la zone où est lyophilisé/réparti le milieu de culture.

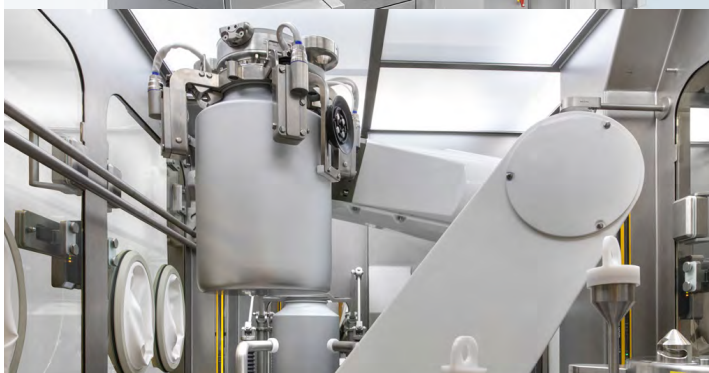
La comptabilisation des unités réparties, lyophilisées, incubées et lues est nécessairement rigoureuse tant les conséquences d'une seule unité contaminée sont importantes.
Une simulation de procédé aseptique n'est pas un test libératoire ni une boule de cristal. Ce n'est qu'un indicateur dont l'interprétation reste délicate. Il n'établit pas la qualité des lots commerciaux déjà fabriqués et ne prédit en rien celle des lots futurs. Ainsi, quelques rares simulations

⇢

skan

Together one step ahead

We at SKAN support you not only during the development process of your product but also provide you with a comprehensive life cycle support.
Together with our experts and our unmatched isolator technology you will be able to optimize your processes.
You will experience a carefree cooperation thanks to our longstanding experience with documentation and profound knowledge of the current FDA and EMA requirements.



www.skan.com

aseptiques non conformes ne signifient pas que les lots commerciaux déjà distribués, supposés être stériles, peuvent contenir une unité contaminée. Inversement, une série de simulations aseptiques conformes ne peut garantir la stérilité de toutes les unités déjà commercialisées.
L'invalidation ne peut être qu'un événement rare. Une simulation aseptique ne peut être invalidée que si les procédures existantes demandent, dans les mêmes circonstances, l'arrêt ou la destruction d'un lot commercial. Il existe des simulations propres aux simulations aseptiques pouvant admettre une invalidation comme la non-fertilité du milieu de culture, pour peu que cette fertilité insuffisante ne soit pas imputable aux procédures ou aux pratiques du laboratoire de contrôle. L'invalidation s'accompagne alors de la réalisation d'une nouvelle simulation de substitution.

9. Retour d'expérience sur les tests de fertilité secondaires réalisés dans le cadre des simulations aseptiques de procédé de lyophilisation

Le type de milieu et les conditions d'incubation déterminent dans quelle mesure la simulation de procédé aseptique est capable de détecter une contamination et dans quelle mesure elles peuvent conduire à des conclusions légitimes. De plus, il est important de souligner que, quelles que soient les propriétés des milieux, les conditions d'incubation ou les paramètres du procédé, la simulation se veut universelle, pour détecter la plus grande diversité de germes et, par conséquent, le risque de faux négatifs ne peut être exclu.
Les milieux occupent une place stratégique dans une démarche de simulation de produit aseptique. Or, les milieux sont essentiellement d'origines biologiques, dont les compositions varient dans le temps. En général, un milieu de culture tel qu'un bouillon nutritif trypcase soja (ou bouillon trypticase soja) devrait être utilisé. Le choix d'un milieu doit être basé sur la capacité de croissance des organismes de la flore isolée du site (par exemple, des micro-organismes environnementaux).

Du point de vue de l'analyse des risques, la probabilité d'une contamination par un microorganisme anaérobie ou microaérophile est plus faible que pour un microorganisme aérobie, y compris pour un procédé de fabrication anaérobie. Par conséquent, la simulation d'un procédé aseptique en conditions anaérobies doit être réalisée de manière sélective, afin de ne pas masquer les contaminations de l'environnement par des organismes aérobies, qui sont certainement plus susceptibles d'être présents. La simulation de procédé aseptique dans des conditions anaérobies doit idéalement être réalisée avec un milieu approprié pour ces micro-organismes.
Les produits sensibles à l'oxygène conditionnés sous azote créent un environnement favorisant la croissance de bactéries microaérophiles, comme Propionibacterium acnes. De plus, il est important de noter que les opérateurs sont des porteurs d'organismes microaérophiles. C'est pourquoi l'utilisation d'un gaz inerte ou d'un milieu favorisant la croissance de microorganismes anaérobies peut être appropriée si la présence d'organismes anaérobies est confirmée lors de la surveillance environnementale ou, plus probablement, lors des tests de stérilité des produits médicamenteux.
Il n'est pas certain que des conditions anaérobies ou au moins microaérophiles soient obtenues uniquement lors de l'utilisation d'azote. Sommes-nous sûrs que, dans certaines circonstances, il n'y a pas de risque qu'une simulation de procédé aérobie aseptique empêche la croissance de micro-organismes aérobies ? Qui n'a pas connu des résultats de fertilité quelque peu aléatoires avec le genre *Bacillus* ?

De nos jours, tous les sites testent les milieux après l'incubation de simulations de procédé aseptiques pour s'assurer qu'ils peuvent supporter la croissance de contaminants potentiels. Mais dans le cas des procédés de lyophilisation, les unités de simulation de procédés aseptiques sont souvent bouchées après une étape de vide partiel. Par conséquent, les unités sont incubées sous pression réduite et sous une teneur en oxygène plus faible jusqu'à l'inspection finale. Il n'est pas évident dans ces conditions qu'une faible teneur en oxygène dans l'espace de tête puisse être considérée comme favorisant la croissance des organismes aérobies. Certains répondront : "*Oui, tant que le milieu passe le test de fertilité secondaire, c'est-à-dire après incubation*", mais que penser des résultats obtenus lors des tests de fertilité secondaire "après incubation" réalisés dans des conditions différentes de celles de "l'incubation" ?

Le test de fertilité du milieu de culture se base généralement sur deux phases :

- Un premier test de fertilité primaire, avant mise en œuvre lors de la simulation du procédé aseptique, pour prouver les performances intrinsèques du milieu de culture ;
- Un test de fertilité secondaire sur des unités testées post simulation aseptiques ET post incubation de ces mêmes unités pour montrer que le procédé n'a pas d'impact sur la fertilité du milieu de culture.

Dans le cas des tests secondaires de stimulation de la croissance, les unités trouvées stériles après incubation sont testées avec un nombre réduit de microorganismes (< 100 cellules) à la fin de l'incubation afin de prouver la capacité du milieu de culture à favoriser la croissance des microorganismes tout au long de l'incubation en cas de contamination.
La croissance doit être détectée en moins de trois jours pour les bactéries et en moins de cinq jours pour les levures et les moisissures à différentes températures d'incubation. L'objectif est de démontrer que, quel que soit le microorganisme, il peut se développer au moins dans l'une des deux conditions d'incubation. Parfois, les sites testent les propriétés favorisant la croissance des milieux par inoculation de souches dans des tubes à essai ou des bouteilles remplies de milieu à partir d'unités de simulation de procédé aseptiques à pression atmosphérique.
Si les tests de fertilité ne sont pas effectués dans les mêmes conditions d'incubation que les unités de simulation de procédé aseptiques, en particulier avec une teneur en oxygène réduite, les tests peuvent être trompeurs et une "simulation de procédé aseptique conforme" associée à un test de fertilité secondaire conforme peuvent être plus discutables qu'il n'y paraît à première vue.

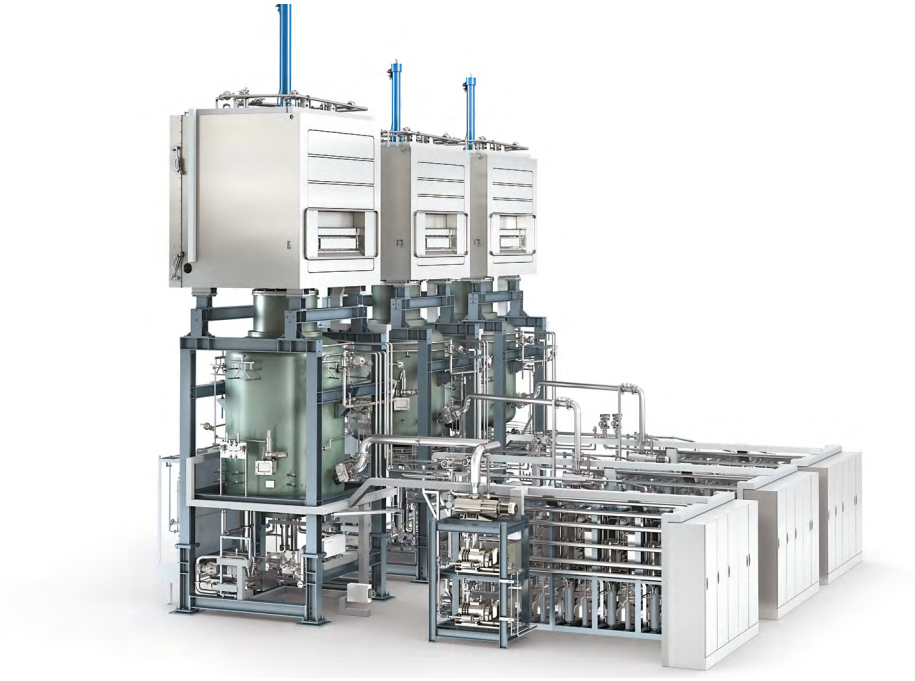
Conclusion

Sur la base d'une littérature très riche, nous continuons de penser que le but d'un procédé aseptique est particulièrement essentiel pour limiter tout type de contamination dans les produits pharmaceutiques, en particulier dans les produits stériles. Pour assurer la stérilité des produits pharmaceutiques, la stérilisation des équipements et des articles de conditionnement, les remplissages et lyophilisations aseptiques doivent être simulés avant de procéder à la fabrication de routine de ces produits pharmaceutiques. L'assurance de la stérilité des produits pharmaceutiques dépend de la précision avec laquelle les simulations de procédé peuvent caractériser un procédé aseptique tout en s'assurant de la recevabilité des résultats quels qu'ils soient.

Silicon oil detection in pharmaceutical freeze dryer by mass spectrometry.

By Paul CORNEL, Matthias KOPP, Jan-Malte MOSBLECH & Alexander TAMBOVZEV - OPTIMA
paul.cornel@optima-packaging.com

Mass Spectrometry has a wide range of applications in the freeze drying process of pharmaceuticals. It can be used to monitor the gas composition inside the vacuum chamber, thereby aiding in keeping track of the drying progress, as well as possible external air leakages and internal silicon oil leakages.
In this paper, the use of mass spectrometry for silicone oil detection is discussed.



The shelves, which hold the pharmaceutical product vials, are supplied with silicon based oil for temperature control. If the oil leaks into the chamber, it could possibly contaminate a whole batch and if it goes undetected even multiple batches. Mass spectrometry can help in detecting such leakages and thereby enhance the safety of production especially for older freeze dryers where leakages from the shelves or silicone oil hoses could be more likely.

1. Basics of mass spectrometry

Mass spectrometry in any form is a method to analyse a sample's composition. Therefore, the sample needs to be separated into its molecular components. This separation takes place through the different masses of the components.
In pharmaceutical environments quadrupole mass spectrometers are commonly used. Their principle is shown in *Figure 1*.

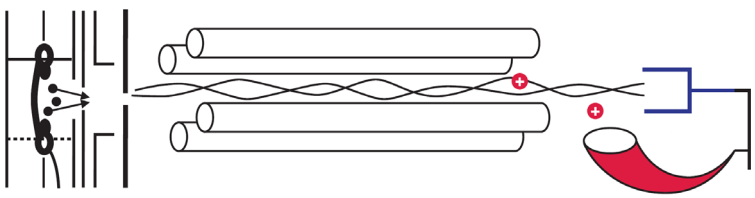


Figure 1. Quadrupole mass spectrometer - left: ion source - middle: mass filter - right: detector consisting of faraday cup and electron multiplier below [1]

A quadrupole mass spectrometer functions through ionizing the sample, accelerating the then charged particles, filtering the particles depending on their charge and mass through an electromagnetic field and finally, detecting the filtered ions. ⇢

The gasses flow from the freeze dryer through a pipe into the mass spectrometer, where a filament inside the ion source is heated to a point where electrons are ejected. Those electrons ionize the gas and split up parts of the molecules in the gas. This means that the spectrum detected does not correlate directly with the sample, because only the fragments can be detected.
Silicone oil (polydimethylsiloxane) consists of long chains of silicon and oxygen atoms together with side-groups of hydrocarbons connected to the silicone centres. When subjected to the ion source of a mass-spectrometer the long chains break into several sub-chains and those sub-chains are detected. Also multiple ionization can occur, which further enhances the detection of further possible fragments.
The ionized particles are accelerated through a source slit and lead into four polarized rods (AC and DC on both pairs) which produce an electromagnetic field. The scan through the different mass by charge ratios (m/z) is done by increasing the voltages of the rods. Therefore different mass by charge ratios can pass into the detector.
Detection of the separated molecules takes place by means of a faraday cup, which simply detects any charge produced by incoming ions, or an additional secondary electron multiplier can enhance the detectable traces of ionized particles. Because of the low concentrations of the silicone oil vapours in the chamber the secondary electron multiplier is necessary to amplify the silicone-oil signal.
To simplify the presentation of the mass by charge ratio it is common to assume every particle is charged only once. Therefore, the mass by charge ratio can be expressed simply through its atomic mass.
Calculating the concentration through the ion current, can simplified be evaluated by adding up all measured currents and setting the sum as 100%. Every single concentration is therefore a part of the 100% and can then be calculated.

2. Silicone oil detection

2.1 Silicone oil contamination

For the freeze drying process the shelves are heated and cooled in a wide temperature range by a silicone oil circuit and are moved during the stoppering process. The change in temperature and mechanical movement puts strain on the system.
Especially for older systems or after maintenance work in the chamber there is a risk of a leakage with the possibility of silicone oil evaporating into the chamber and thus contaminating the product.
Most likely, a contamination would occur when the sublimation of the product i.e. the vapour flow from the vial stops (at the end of the main drying phase). After the drying process the flow reverses because the chamber is vented before the vials are stoppered. This is when the contamination most likely would occur. Silicone oil contamination is not easy to detect, if a small leak stays undetected then the producer has to prove that earlier batches are not contaminated. The leakage would therefore lead to high costs.

2.2 Detection by mass spectrometry

A quadrupole mass spectrometer can easily detect even small leakages and therefore improves the safety of production. The silicone oils used in freeze drying differ in molecular structures, but they all have segments in common as shown in *Figure 2*.

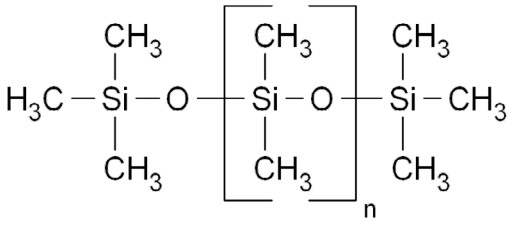


Figure 2. Structure of polydimethylsiloxane [2]

After ionization the molecules fall apart into methyl groups bonded to a silicon atom, also oxygen can be part of the detectable fragments. This leads to detectable atom masses after their fragmentation by ionization of 71, 73 and 74. The fragments with these atomic masses are the easiest ones to detect because the peaks differ the most from their base signal. Therefore, they are the best indicator for silicon oil. The highest peak can be detected at 73 AMU.

3. Connection to the freeze dryer

Since mass spectrometry can be used for different purposes in pharmaceutical freeze dryers such as process monitoring, silicone oil and/ or general leak detection, the possibility of using the mass spectrometer at different process-stages and the mechanical connection to the chamber can differ accordingly.
For monitoring the water vapour during primary and secondary drying, method A i.e. continuous monitoring can be implemented to avoid any backflow into the sterile chamber. For service operations and silicone oil leak detection method B i.e. offline monitoring can be considered for implementation.

3.1 Method A: Continuous monitoring

While using mass spectromety in the freeze drying process, care must be taken to ensure no contamination of the product on the shelves. This can be done by implementing special
precautions in the control system (PLC / recipe) that minimize the risk of an unwanted backflow of unsterile gases from the mass spectrometer into the chamber.
Therefore, a fully integrated configuration is favoured, where the mass spectrometer is mounted directly on the chamber of the freeze dryer and the control system of the mass spectrometer is directly integrated into the one of the freeze dryer. Also a moveable mass spectrometer in a trolley can be used, if the relevant signals are exchanged.

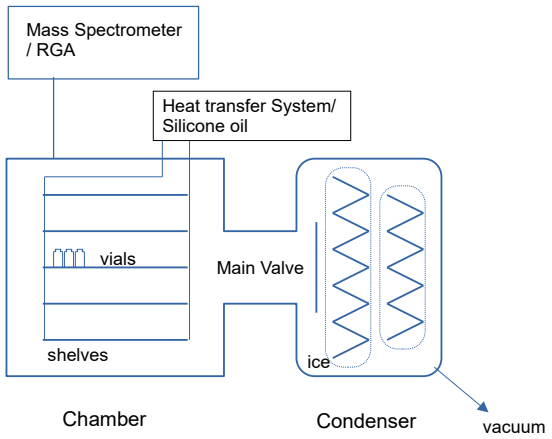


Figure 3. Schematic of a freeze dryer with a mass spectrometer connected

The mass spectrometer is connected via a membrane valve to the chamber, which satisfies the 3d-rule. This valve separates the unsterile pipework of the mass spectrometer from the sterile chamber and must be closed during cleaning (CIP) and sterilisation (SIP). In principle, a mass spectrometer can also be connected to the freeze dryer at other points, e.g. in front of the vacuum pumps, at the condenser or at the main valve. For process monitoring it needs to be connected to the chamber. Also for general leak detection and silicone oil detection the chamber is the most preferable connection point since it is closest to the product.
During loading and freezing, the mass spectrometer starts up automatically to prepare for the measurement. During freeze drying, the drying progress can be monitored by measuring the gas

composition inside the chamber with the mass spectrometer. To allow desublimation of water vapour on the condenser coils the main valve is open. However, since the cold condenser coils also condense possible silicone oil vapour, the detectability of silicone oil is reduced during the freeze drying process. In addition, the process of sublimation with high flow rates inside the chamber contributes to the worsening of the detection limit.
In order to detect silicone oil, it makes sense to use the mass spectrometer in a secondary process, e.g. before or after the leakage test of the system, where a low pressure is achieved in the chamber and the main valve is closed.

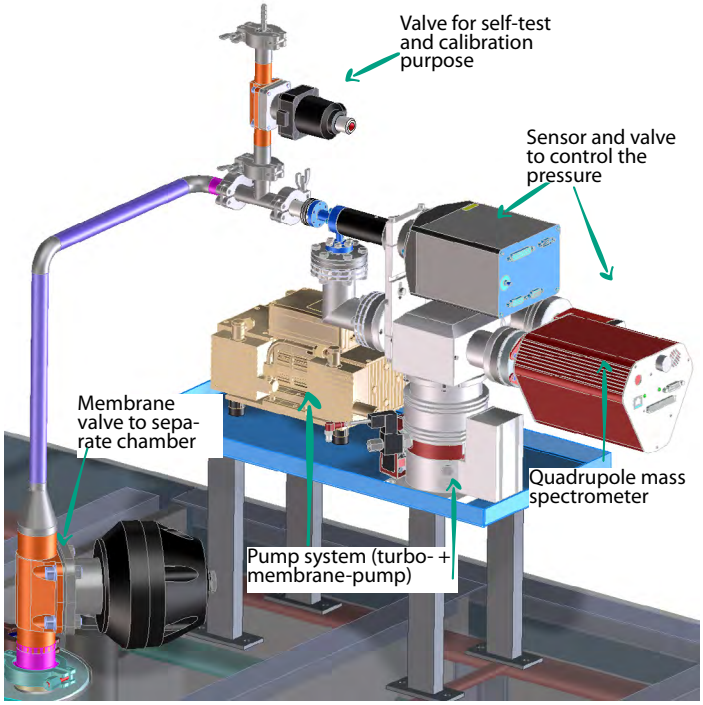


Figure 4. Fully integrated mass spectrometer mounted on top of chamber

3.2 Method B: Offline monitoring

A standalone mass spectrometer can be used to check a freeze dryer in time intervals or after a service operation with high risk of silicone oil spill.
For that purpose a mobile mass-spectrometer, with or without signal exchange with the freeze dryer, can be used. The freeze dryer needs to be brought into a favourable condition i.e. low pressure, high shelf temperature and preferably a closed main valve or no condenser cooling to enhance the detection of silicone oil. The mass spectrometer is connected via a hose to a port on the chamber and is operated directly via the mass spectrometer unit. The biggest advantage of a mobile configuration is its mobility itself, which enables the operator to connect the mass spectrometer to different ports of the freeze dryer or to use the same mass spectrometer on several freeze dryers.

Figure 5. Left: Mobile mass spectrometer with plc integrated in a trolley; Right: Stand-alone mass spectrometer [1]

4. Tests

4.1 Freeze dryers and silicone oils

The silicone oil detection by mass spectrometry was tested on a variety of freeze dryers of different sizes:

Laboratory freeze dryer

The laboratory freeze dryer is a small unit with a chamber volume of 0,7 m^3 and a shelve area of 0,6 m^2. A stand-alone mass spectrometer was used which was connected by a flexible metal hose to a port on top of the chamber. For test purposes, liquid silicone oil was injected into the freeze dryer. A dosing system, which is capable to vary the injection rate from 40 mg/h to 1000 mg/h, was installed on top of the chamber and connected to a port via a 1/16" tube. Figure 6 shows the installation of the silicone oil dosing system on top of the freeze dryer. The tests were performed with a silicone oil (TT3) with a viscosity of 3 cSt.

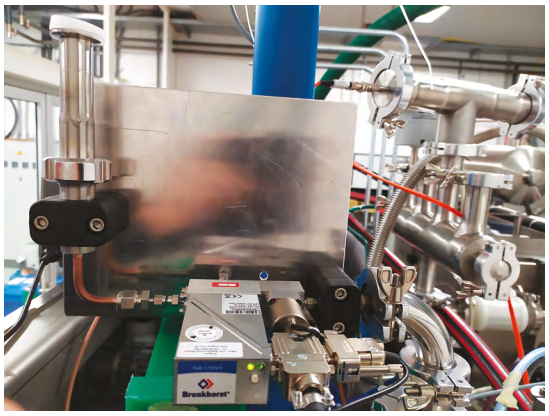


Figure 6. Picture of the dosing system which is connected to the laboratory freeze dryer

Production freeze dryer 1

Tests were done on two identical production freeze dryers. The freeze dryers are double floor design with the condenser below the chamber and have a shelf area of 6,77 m^2 (8+1 shelves). The overall volume is about 8,7 m^3, while the chamber holds about 5 m^3 with the main valve closed. The mass spectrometer is fully integrated into the software of the freeze dryer and mounted on top of the chamber. The same dosing system used on the laboratory freeze dryer was installed on another port on the chamber top.
In these tests a different silicone oil (X-40 Fragoltherm) was used with a viscosity of 5 cSt.

Production freeze dryer 2

Tests were also performed on another production freeze dryer with a volume of 6,55 m^3. Instead of liquid injection of silicone oil by the dosing system, the silicone oil was brought into the chamber via a dispense lock. The dispense lock was installed at a flange located on the freeze dryer chamber wall. The dispense lock, in which a vial with a certain amount of silicone oil was placed, was separated from the chamber by a hand valve. The silicone oil weight was measured before and after the test. The weight difference corresponds to the evaporated silicone oil mass during the test time. To further improve the detection with the mass spectrometer, a hot air blower was used on the dispense lock to increase evaporation of silicone oil. This test was performed with a silicone oil with a viscosity of 3 cSt but from a different manufacturer (KT3).
The mass spectrometers used for all experiments were either a QMG 250 PrismaPro or a QMG 220 PrismaPlus from Pfeiffer Vacuum GmbH. The secondary electron multiplier was always used to amplify the signal for silicone oil. The results are always shown in ppm (or %), and are calculated by the simplified formula mentioned before.
The mass spectrometer was configured to measure the following atomic masses: 18 (water), 28 (nitrogen), 32 (oxygen), 40 (argon), 44 (carbon dioxide) and 73 (silicone oil). For the test on production freeze dryer 1 instead of the mass of 40 (argon), 4 (helium) was used.

4.2 Basic silicon oil signal as a function of the chamber pressure

Since the mass spectrometer never shows zero signal for any mass, but always measures a certain but low ion current, it is important to

measure the empty system. This is done to determine the silicone oil signal of a clean system before using the mass spectrometer for silicon oil leak detection.
A comparable test was done on the laboratory freeze dryer. During this test, the main valve was open, the condenser cooling was active and the pressure inside the freeze dryer was regulated to 500 µbar, 300 µbar, 200 µbar, 100 µbar, 50 µbar and 20 µbar. The shelves were controlled to a constant temperature of 20 °C during the whole test duration. No silicone oil was induced during this test. However, for the laboratory freeze dryer it must be taken into account that the system cannot be cleaned automatically or sterilised. In addition, it must be considered that tests with silicone oil dosing have already been carried out on the laboratory freeze dryer before this test. Therefore, there were most likely silicon oil residues inside the laboratory freeze dryer, which evaporated due to the low pressure inside the chamber.

Figure 7 shows the measured ion currents of those single gases divided by the total ion current.

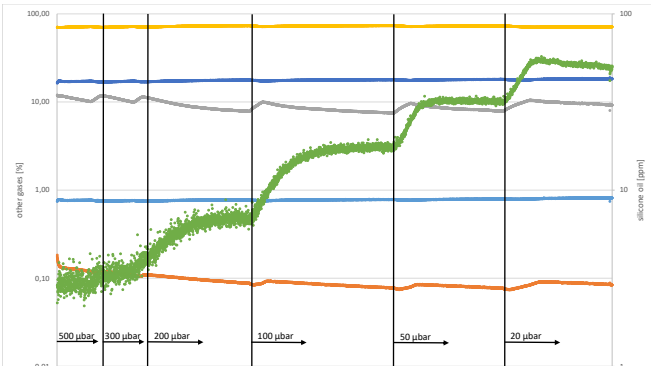


Figure 7. Trend for silicone oil concentration for different chamber pressures

Key learning: The test shows that a low chamber pressure enhances the detection of silicone oil. Even though these measurements are done with a very likely contaminated system, this test should also be performed on production freeze dryers before using the mass spectrometer to detect silicone oil within production runs for determining the basic signal of a clean system.

4.3 Influence of chamber pressure and shelf temperature on silicone oil detection

A test was performed on the laboratory freeze dryer to study the effect of different chamber pressures and shelf temperatures on silicone oil detectability. The silicone oil was injected into the freeze dryer via the dosing system with a flowrate of 40 mg/h for 45 min. The test was performed at four different chamber pressures i.e. 50 µbar, 100 µbar, 200 µbar and 300 µbar, and two different shelf temperatures, -20 °C and +20 °C. The main valve was kept open during the test and the condenser cooling was active.

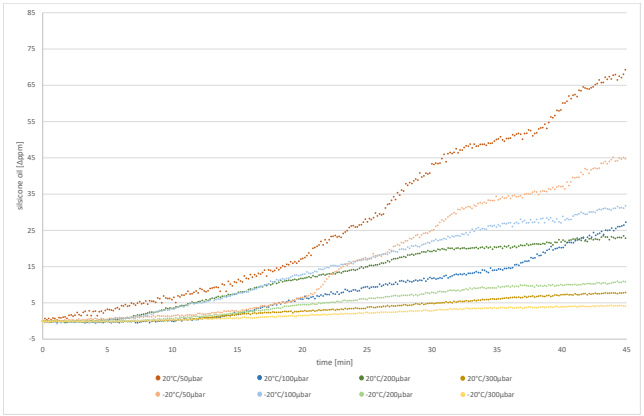


Figure 8. Δppm of silicone oil over the test time with a constant dosing of 40mg/h

To enhance the comparability of the different measurements, the change of concentration during the dosing of the silicone oil is used. This is due to the effect of a rising silicone oil signal caused by silicon oil residues from previous dosing tests.
In *Figure 8* the rise of the measured silicone oil concentration (Δppm) is shown during the 45 min injection time at different shelf temperatures and chamber pressures.

Key learning: The test shows that a lower pressure inside the freeze dryer enhances the silicone oil detectability of the mass spectrometer. Since the substances must be present in gaseous form in order to be detected by the mass spectrometer, the liquid silicone oil brought into the system by dosing must first evaporate. This would also be the case in the event of a real silicone oil leakage from a hose or a shelf inside the freeze dryer. In order to detect the injected silicone oil, low pressures in the freeze dryer are therefore advantageous. The experiment also shows that higher shelf temperatures are advantageous due to the same effect, the necessary evaporation of the silicone oil.
It should also be noted that for this test the silicone oil signal, measured by the mass spectrometer, is still increasing after 45 minutes of injecting silicone oil.

4.4 Influence of sublimation on silicone oil detection

This test was additionally performed on the laboratory freeze dryer to study the effect of water sublimation on silicone oil detectability as it occurs during a regular drying process.
The silicone oil was injected into the freeze dryer via the dosing system with three different flow rates of 40 mg/h, 80 mg/h and 120 mg/h, each for 45 min. The shelves were maintained at a constant temperature of 5 °C for loading the shelves with vials filled with a water/ mannitol solution. After loading, the shelves were cooled down to -50 °C within one hour and held at that temperature for about 6,5 hours to freeze the water in the vials. After cooling down the condenser coils and opening the main valve, the system was evacuated and controlled at a pressure of 50 µbar. Then the shelf temperature was set to 20 °C to start the sublimation/ drying process. These conditions i.e. a shelf temperature of 20 °C and a chamber pressure of 50 µbar, were kept constant throughout the test.

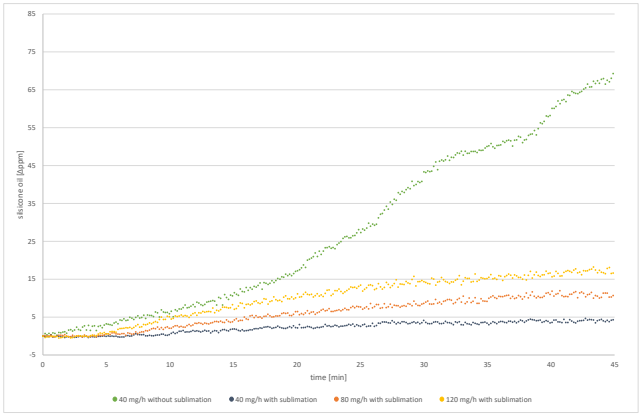


Figure 9. Δppm of silicone oil over the test time

In *Figure 9* the rise of the measured concentration of silicone oil is shown during the 45 min injection time for different silicone oil injection flows during sublimation. As a reference, the rise of the measured concentration of silicone oil without sublimation is shown for a dosing flow of 40 mg/h silicone oil from the previous test.

Key learning: The test shows a decreasing detection capability of silicone oil during the sublimation process compared to an empty system. While the increase in measured concentration of silicone oil without sublimation was at a value of about 70 ppm after 45 min - and is still rising - the signal increase at the same injection rate with sublimation was below 5 ppm after 45 min. Even with higher dosing of 80 mg/h and 120 mg/h of silicone oil, the measured increase of silicone oil concentration by the mass spectrometer was much lower than that without sublimation.

...→

4.5 Influence of cold trap and main valve on silicone oil detection

The test was performed on the production freeze dryer 1. For this test, the shelves were maintained at a temperature of 20 °C, the condenser was cooled down and the main valve was opened. At first, the system was evacuated to 50 µbar, the empty system was tested and the concentration of the silicone oil was noted (3,2 ppm / 1,2 ppm).
Afterwards 48 mg/h of silicone oil were dosed into the freeze dryer. No significant rise of silicone oil was measured by the mass spectrometer. The main valve, which separates the cold condenser from the chamber, was closed. Almost immediately, a rise of the measured concentration of silicone oil was detected (19 ppm / 30 ppm). After opening the main valve again, the measured concentration by the mass spectrometer dropped again. The dosing was then subsequently increased up to 500 mg/h (780 mg/h for the second freeze dryer). An increase in measured silicone oil by the mass spectrometer could be detected (12 ppm / 4 ppm) but it was still lower than with the closed main valve and a dosing of only 48 mg/h.

Key learning: The closure of the main valve increased the detectability of silicone oil in the chamber at a pressure of 50 µbar and 20 °C shelf temperature for this freeze dryer. It could be advantageous to close the main valve for silicone oil detection to exclude the cold sink from the monitored system.

4.6 Influence of test conditions (vapour injection)

The test was performed on the production freeze dryer 2. For this test, the shelves were maintained at a temperature of 20 °C, the condenser was cooled down and the main valve was opened. At first, the system was evacuated to 10 µbar and the mass spectrometer was switched on to measure the clean, empty freeze dryer. A total of three times a vial filled with silicone oil was inserted into the dispense lock. The weight was measured before and after the test to determine the evaporated mass of silicone oil. The dispense lock was cleaned between the measurements in order to avoid having any residues of silicone oil inside. The manual valve for the injection of silicon oil to the dispense lock was opened for a duration of 5 minutes.

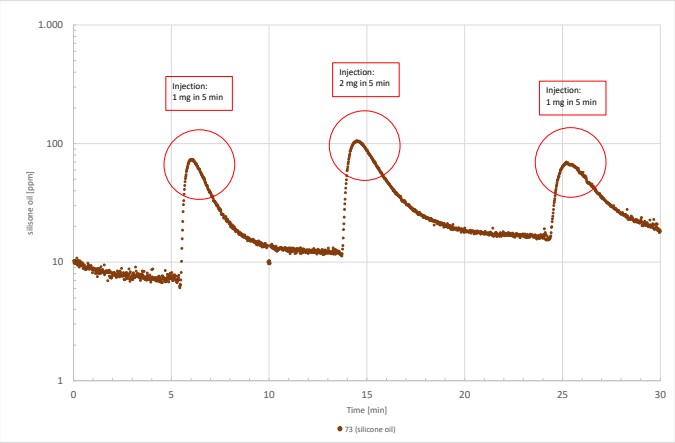


Figure 10. Concentration of silicone oil over the test time

In *Figure 10* the measured concentration of silicone oil is shown over the whole test time. The clearly recognisable three peaks are the times at which the manual valve for the dispense lock was opened and silicone oil was thus able to evaporate and flow into the chamber.

Key learning: With this "vapour injection" method, even very small doses of silicone oil (1 mg – 2 mg) were detectable by the mass spectrometer. In addition, the response time was very short (< 5min), and the detection signal was quite clear (about a tenfold increase in concentration) in this test.
Since the freeze dryer was not cleaned in between those three measurements while no silicone oil was added, it looks like the basic signal increases over the testing time. The measured concentration for silicone oil was around 7 ppm before the first test, which rose to about 12 ppm after the first test and to about 16 ppm after the second test.

Summary and further studies

With different tests on different sized systems, the general usability of mass spectrometry to detect silicone oil in a pharmaceutical freeze dryer was shown. The tests also show that the measurement result for the detection of silicone oil can be improved or worsened by certain parameters. In order to improve detection, and thus to be able to measure even small traces of silicone oil inside the chamber with the mass spectrometer, it seems to be advisable to:

- set the chamber pressure as low as possible,
- set the shelf temperature as high as possible,
- measure in an empty system without active sublimation,
- probably close the main valve between condenser and chamber.

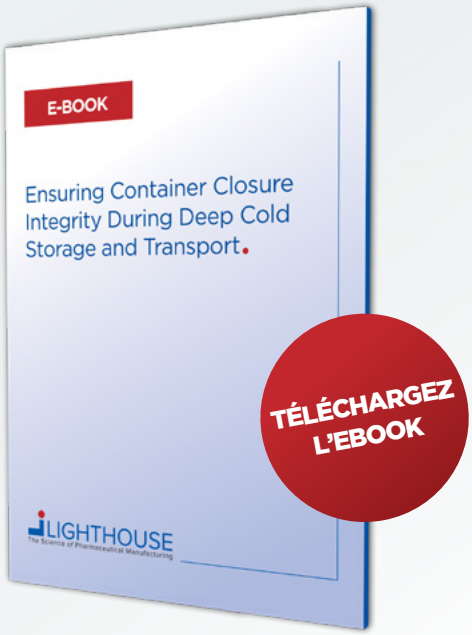
For testing the limits of silicon oil detection with mass spectrometry, two different dosing systems were used, "liquid injection" and "vapour injection". Since the silicone oil always has to evaporate before it can be detected by the mass spectrometer, vapour injection results in faster increase of detected silicon oil concentration. The used laboratory freeze dryer seemed to accumulate silicone oil over time, as it cannot be automatically cleaned or sterilized.

For this paper the simplified calculation method was used which does not accommodate for the different ionisation probabilities and fragmentation distribution. Fragmentation distribution of silicone oil is not known in detail and has to be determined in further studies to ensure a more precise calculation of gas concentrations.
For further studies, it would be interesting to investigate the degradation of the sensitivity of the mass spectrometer over time with and without exposing it to silicone oil. This degradation was seen on the used mass spectrometers after inducing silicon oil and has to be accommodated by increasing the gain of the secondary electron multiplier.
Another interesting area for further studies on mass spectrometry for freeze drying are experiments with a placebo product in a freeze dryer to which silicone oil is added during a normal freeze drying run to simulate a leakage. The aim is to investigate whether traces of silicone oil could be detected in the placebo product after freeze drying, and whether these could be detected beforehand i.e. during the freeze drying process or during a separate process by the mass spectrometer. The test can be used to tackle the question of which measured concentration of silicone oil in the freeze dryer might still be tolerable. The mass spectrometer as a PAT can also be used for other purposes than the detection of silicone oil. With the help of mass spectrometry, the water vapour concentration during freeze drying can be measured e.g. for end point detection. For leak detection from the technical or clean room, the gas composition in the freeze dryer can be analysed for air components such as oxygen, provided that the freeze dryer is operated with nitrogen.

Avez-vous besoin de garantir l'intégrité (CCI) de vos produits nécessitant un stockage et un transport à très basse température ?

L'analyse laser du headspace est la seule technique rapide et non-destructive pour les tests d'intégrité (CCI), qui peut mesurer les défauts d'intégrité temporaires dans les produits pharmaceutiques stériles dûs au stockage ou au transport à ultra basse température.

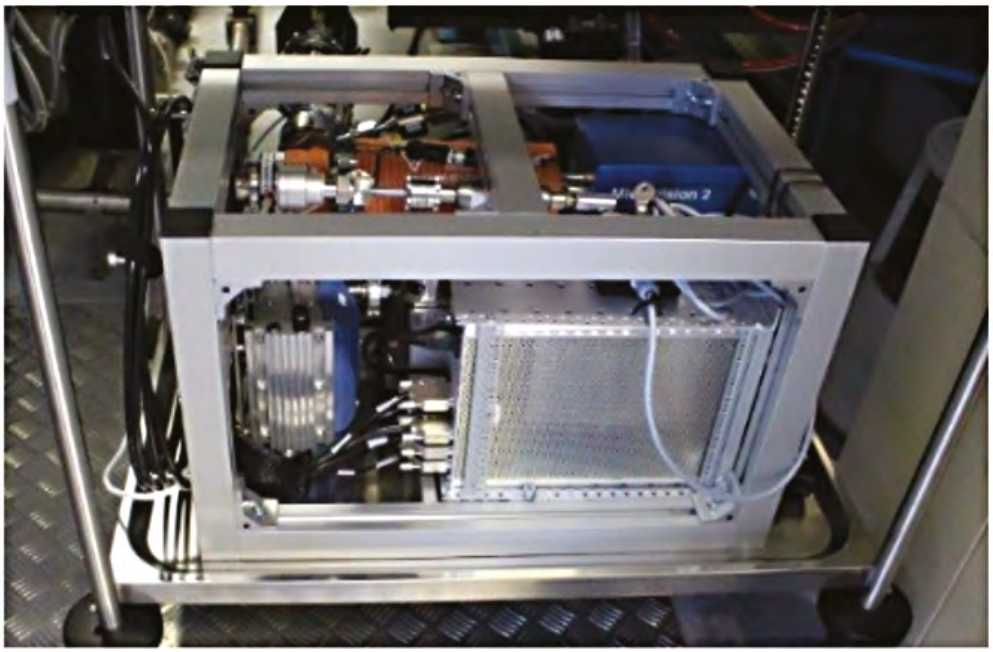
scanner
le code QR_
TÉLÉCHARGEZ L'EBOOK.



Les spectromètres de masse. Retour d'expérience.

Par Laurent GAY, Marco SALVAGNI & Nathalie SCHWEIZER - DEBIOPHARM
laurent.gay@debiopharm.com

Les procédés de fabrications des médicaments sont souvent complexes, non seulement au niveau scientifique, mais également lorsque l'on regarde les équipements utilisés. Dans notre industrie, nous produisons des formes retards à l'aide de matrices polymères - principes actifs. Lors de ces fabrications, des procédés de broyage, extrusion et lyophilisation sont utilisés. Chaque équipement permet la transformation des matières premières en un produit pharmaceutique, mais il est également source de contaminations.



1. Besoins et critères pour l'achat d'un spectromètre

Dans ce type de procédés mécaniques, la maitrise de l'usure des équipements est un facteur primordial afin de limiter les contaminations.
Il y a des pièces d'équipements d'usure qui peuvent être contrôlée et changées régulièrement sans trop de problèmes, mais lorsqu' il s'agit de lyophilisateurs, la situation se complique.
Ce sont des équipements couteux, un procédé en batch et qui est souvent l'équipement qui limite la capacité de production. Ils sont chers et nécessites du temps et des ressources importantes pour leur mise en route. Ils sont utilisés pendant plusieurs décennies et il est donc impératif de pouvoir surveiller leur usure afin d'assurer la qualité des produits.
Le lyophilisateur est soumis à des contraintes thermiques et mécaniques. La possibilité de rupture de l'intégrité du système d'huile est l'une des préoccupations principales de chaque industriel.
En effet, les fabricants de lyophilisateurs recommandent un changement de ces flexibles, mais il est difficile de déterminer une durée de vie. Cela dépend de trop de facteurs comme la fréquence d'utilisation, des procédés de stérilisation et de nettoyage, des évènements survenus en routine comme les pannes ou les incidents. Sur les conseils du fabricant. Nous avons choisi d'installer un spectromètre de masse de la marque "LYOPLUS ™" de GEA. Le fabricant propose deux variantes ; une installation fixe sur les équipements et l'autre mobile.

Nous avons opté pour le choix du spectromètre mobile, puisque nous avions 2 lyophilisateurs afin de rationaliser l'investissement et d'assurer un back up en cas de panne, puisqu'il est assez facile de louer un équipement de remplacement si besoin.
Si le choix d'un spectromètre mobile permet de limiter les couts d'achat, d'un autre côté il faut être très vigilant car ce choix est lié à des risques importants de mauvaises mesures et des risques accrus d'endommager l'équipement.

⇢

2. Mesure sur LYOPLUS "mobile"

Afin d'illustrer les différentes difficultés pour l'utilisation d'un spectromètre mobile, nous allons illustrer la procédure de mesure mise en place avec les précautions d'utilisation impératives afin de réaliser des mesures fiables et sans endommager l'équipement.
L'appareil est sur un charriot et permet donc de la déplacer d'une zone technique à l'autre pour réaliser les mesures sur les différents lyophilisateurs du site.

Il faut d'abord rappeler le fonctionnement d'un spectromètre de masse. La spectrométrie de masse est une technique permettant de détecter et d'identifier des molécules en déterminant leur masse moléculaire. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). L'échantillon à identifier sous forme de gaz, dans notre cas le gaz (air) présent dans le lyophilisateur, est ionisé par une source de ions, ces-derniers sont accélérés, puis passent dans un analyseur, qui trie les ions en fonction de leur rapport m/z, puis ils arrivent dans un détecteur de ions et un ordinateur traite le signal obtenu (*voir Figure1*).

Des traces de silicones seront aisément détectées. Une simple emprunte de doigt contaminé par du silicone sera évaporée par le lyophilisateur et identifiée par le spectromètre.

Afin de réaliser les mesures, il faut que la chambre soit à une pression inférieure à 500 microbar. Plus cette valeur est faible, plus la vapeur d'huile de silicone pourra être évaporée et détectée, mais une valeur trop basse impacte la précision de la mesure. Les recommandations du fournisseur sont de réaliser la mesure à environ 100 microbar. Il est également impératif de réaliser les mesures toujours dans les mêmes conditions afin de pouvoir comparer celles-ci entre elles.
Dans notre cas, cela implique de s'assurer que le lyophilisateur est sec en lançant au préalable un dégivrage. Les conditions de mesures sont les suivantes 25°C et à 100 microbars avec la vanne ouverte entre la chambre et le piège. Les 10 premières minutes sont nécessaires pour stabiliser l'appareil et ne sont pas considérées comme des valeurs fiables. La mesure à proprement parler est réalisée durant 30 minutes et la valeur maximale mesurée doit se trouver en-dessous de la limite d'action définie. Après chaque mesure, le spectromètre doit subir une sorte de nettoyage, appelé « bake », qui est un échauffement de la chambre de mesure pour "brûler" les résidus de la mesure précédente. Ensuite une vérification du bon fonctionnement est réalisée à l'aide d'un "unit test", qui fait passer 4 gaz étalons pour lesquels les spectres sont connus.

En résumé voici donc les étapes :
- Dégivrage et séchage du lyophilisateur
- Mise en condition de mesure du lyophilisateur : 100 ± 20 µbar et à 25 ± 2 °C avec ouverture de la vanne entre la chambre et le piège
- Connexion du lyophilisateur au spectromètre par l'ouverture de la vanne reliant les deux équipements => attention la connexion doit uniquement se faire lorsqu'on les conditions des 100 µbar sont atteinte, sinon le détecteur du spectromètre sera endommagé
- Stabilisation de 10 min
- Mesure de 30 min
- Nettoyage du spectromètre ("Bake")
- Unit test pour vérifier le bon fonctionnement de l'équipement

Dans la mesure du possible, les étapes précédentes doivent être programmées pour assurer une plus grande reproductibilité et une mesure plus fiable. La mise en condition du lyophilisateur sera nettement plus stable si un automate régule la température et la pression, que si ces paramètres sont maintenus de manière manuelle. Les variabilités de mesures de la pression influenceront la valeur en ppm. De plus amples explications sur sujet, ainsi que sur l'importance des connexions entre le spectromètre de masse et le lyophilisateur seront développés dans les chapitres suivants.

3. Définitions des spécifications

Le premier objectif d'un spectromètre de masse couplé à un lyophilisateur, est de rapidement détecté une micro-fuite de silicone pour empêcher toute contamination de nos produits.
Pour déterminer une spécification, il est important de connaître les éléments suivants :
- La taille de la chambre du lyophilisateur
- La "baseline" de silicone mesurée du lyophilisateur en question
- Les quantités détectées en ppm pour une goutte d'huile de silicone (10 mg) ou la quantité détectée pour une micro-fuite
- L'âge du lyophilisateur

Notre fournisseur GEA a réalisé un test pour déterminer le nombre de ppm détecté pour une goutte d'huile de silicone (10 mg) à 100 µbar ajouté dans un lyophilisateur de chez eux. Le test a montré que la goutte d'huile dans la chambre de 1,3 m³ du lyophilisateur augmentait le signal d'au moins 50 ppm. Un de nos lyophilisateur a le même volume et nous avons pris cette valeur pour calculer notre limite d'action (voir ci-dessous).
Sur la base de ces éléments voici les spécifications, qui sont appliquées pour les deux lyophilisateurs du site.

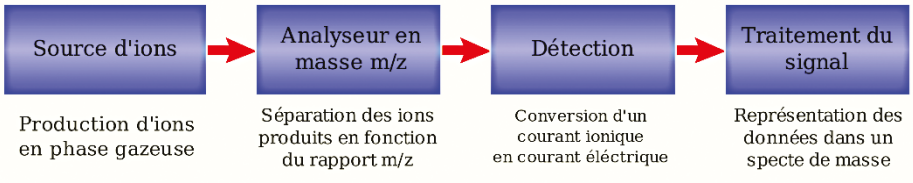


Figure 1.

	Lyophilisateur 1 (ligne B1) à 100 µbar	Lyophilisateur 2 (ligne B2) à 100µbar
Age de l'équipement (année achat)	1999	2007
Volume de l'équipement	1.3 m3	3.6 m3
Baseline moyenne huile de silicone	20 ppm	4 ppm
Limite d'alerte d'huile de silicone = Moyenne + 3 écart-type	30 ppm	11 ppm
Limite d'action d'huile de silicone = Moyenne + 3 écart-type + 50 ppm ou 18 ppm (*)	80 ppm	29 ppm

* Si l'on considère que le rapport entre la taille du lyophilisateur 2 (3,6m³) et la taille du lyophilisateur 1(1,3 m³) est de 2,8, une goutte d'huile de silicone M5 (10 mg) augmente le signal d'au moins 18 ppm.

A noter que l'âge de l'équipement influence la "baseline". Un équipement plus âgé a forcément une usure plus grande et une contamination plus élevée due à des maintenances régulières.
De plus voici des références de valeurs de traces d'huile de silicone dans un lyophilisateur (1.3m³) données par GEA.

Événements	Valeurs de référence [ppm]
Fuite	200-400
Micro-fuite*	80
Huile de silicone résiduelle dans la chambre (pas nettoyé)	50-100
Baseline pour un vieil équipement	10-20
Baseline pour un équipement neuf	< 1

4. Résultats, suivi

Le spectromètre de masse permet aussi de s'assurer par exemple à la suite d'une maintenance que la chambre du lyophilisateur n'a pas été contaminée.
Une contamination par de la graisse utilisée pour la lubrification des vis sans fin dans un de nos lyophilisateur a été détectée par le spectromètre de masse. Cela nous a permis de réagir avant la réutilisation du lyophilisateur pour les productions.

5. Procédure de nettoyage de la chambre du lyophilisateur après contamination

Lorsque la chambre du lyophilisateur est contaminée avec du silicone liquide, il convient de réaliser un processus de nettoyage. Cela peut se faire de différentes manières selon le taux de contamination.

- Un détergent adapté peut être utilisé par sprayage puis rinçage avec de l'eau
- La réalisation de plusieurs cycles de stérilisation peut également diminuer la teneur en silicone dans la chambre
- Un flush (balayage) d'azote gaz dans la chambre peut également se révéler efficace.

Seule une mesure de la teneur en silicone obtenue par le spectromètre de masse permettra de s'assurer que le nettoyage aura été efficace.

6. Définition de la fréquence d'analyses, risques qualité / risques business

La logique serait d'analyser à la fin de chaque lot l'absence de présence de trace d'huile de silicone dans le lyophilisateur, mais en pratique ceci n'est pas toujours possible. Le lyophilisateur est souvent un goulot d'étranglement pour la production, il est donc difficile de "perdre" un slot de production pour un test.
En effet, pour la mise en condition du lyophilisateur, la stabilisation, l'analyse et la remise en condition pour le prochain lot, il faut compter environ 19 heures avec beaucoup de manipulation nécessitant la présence d'un opérateur qualifié.
Nous avions donc opté pour une analyse périodique, à une fréquence de 8 lots ou au maximum de 4 semaines.
Cette durée a été fixée en tenant compte du lead time de production/ analyses de libération. L'important est de pouvoir détecter une éventuelle contamination avant que le lot ne quitte l'usine pour éviter des rappels de lots qui auraient été sur le marché.
Il faut tenir compte de la quantité d'en cours et de leur valeur financière afin de prendre la bonne décision. De plus ces évaluations doivent être refaites régulièrement, car la réalité de la production est amenée à évoluer avec notamment l'utilisation du lyophilisateur pour de nouveaux produits ou des évolutions sur l'échelles de production.
Ce sont ces considérations qui nous ont amené à revoir notre approche et de finalement automatiser la mesure pour l'intégrer dans le cycle des étapes du lyophilisateur. Ceci a permis d'éviter d'avoir la présence d'un opérateur et de réaliser les analyses en temps caché, la nuit, etc.

7. Critères qui nous ont motivé à passer à des équipements dédiés/fixe sur le lyo

À la suite de valeurs élevées obtenues sur nos lyophilisateurs de 2007 (70-180ppm) et de 1999 (200-280ppm), l'investigation nous a démontré que les éléments contaminants étaient liés aux matériels utilisés pour la connexion du spectromètre et notamment la qualité du tuyau et des joints, qui contenaient des traces de silicone (même si leur présence n'est pas déclarée dans le certificat de matière) mais également un démontage et un montage de cette connexion. Le tuyau a été remplacé par un tuyau tressé en inox et les joints par des joints EPDM mais parfois des valeurs hautes étaient tout de même mesurées. L'action qui a suivi, a été de faire mettre des gants au technicien avant montage des connexions, pour éviter d'avoir une contamination par des traces de doigts par une crème de main par exemple ou d'autres éléments touchés auparavant. Toutes ces mesures ont été bénéfiques et de nouvelles contaminations ne sont pas réapparues. Le technicien a cependant dû être bien informé de la problématique pour comprendre l'importance de toutes ces mesures et de leur application.

8. Projet d'automatisation des séquences d'analyse dans la recette du lyophilisateur

Il a été décidé chez Debiopharm, afin de minimiser tout risque, de réaliser une vérification avec le spectromètre de masse de la teneur en silicone dans la chambre avant chaque nouvelle utilisation du lyophilisateur.
La mesure de la teneur en silicone dans la chambre du lyophilisateur ne peut se faire que lorsque le lyophilisateur est dans des conditions bien définies (piège décongelé, température des étagères et pression dans la chambre contrôlées, etc…).

Un certain nombre d'étapes doivent donc être exécutées dès que les flacons ont été déchargés du lyophilisateur jusqu'au prochain chargement, à savoir dans l'ordre : →

1. Le test d'intégrité in situ du filtre d'entrée de la chambre
2. Le dégivrage du piège
3. La mise en conditions du lyophilisateur (température des étagères et pression) pour la mesure de la teneur en silicone
4. La mesure de la teneur en silicone par le spectromètre de masse "Lyoplus"
5. Le cycle de stérilisation
6. La mise en froid des étagères pour le lot suivant (notre produit étant congelé en amont et introduit dans le lyophilisateur sur des étagères déjà pré-refroidies). Cette mise en froid est programmée pour une date et heure précise.

La séquence de toutes les étapes est lancée automatiquement à la suite du déchargement du lot. Dès que l'étape est conforme, l'étape suivante est lancée. Si une des étapes n'est pas conforme, l'étape suivante n'est pas réalisée, une alarme est émise et le groupe d'intervention est averti.
La séquence automatique a été développée sur notre système PLC / Scada. Ce dernier commande le spectromètre de masse pour la mesure de teneur en silicone.

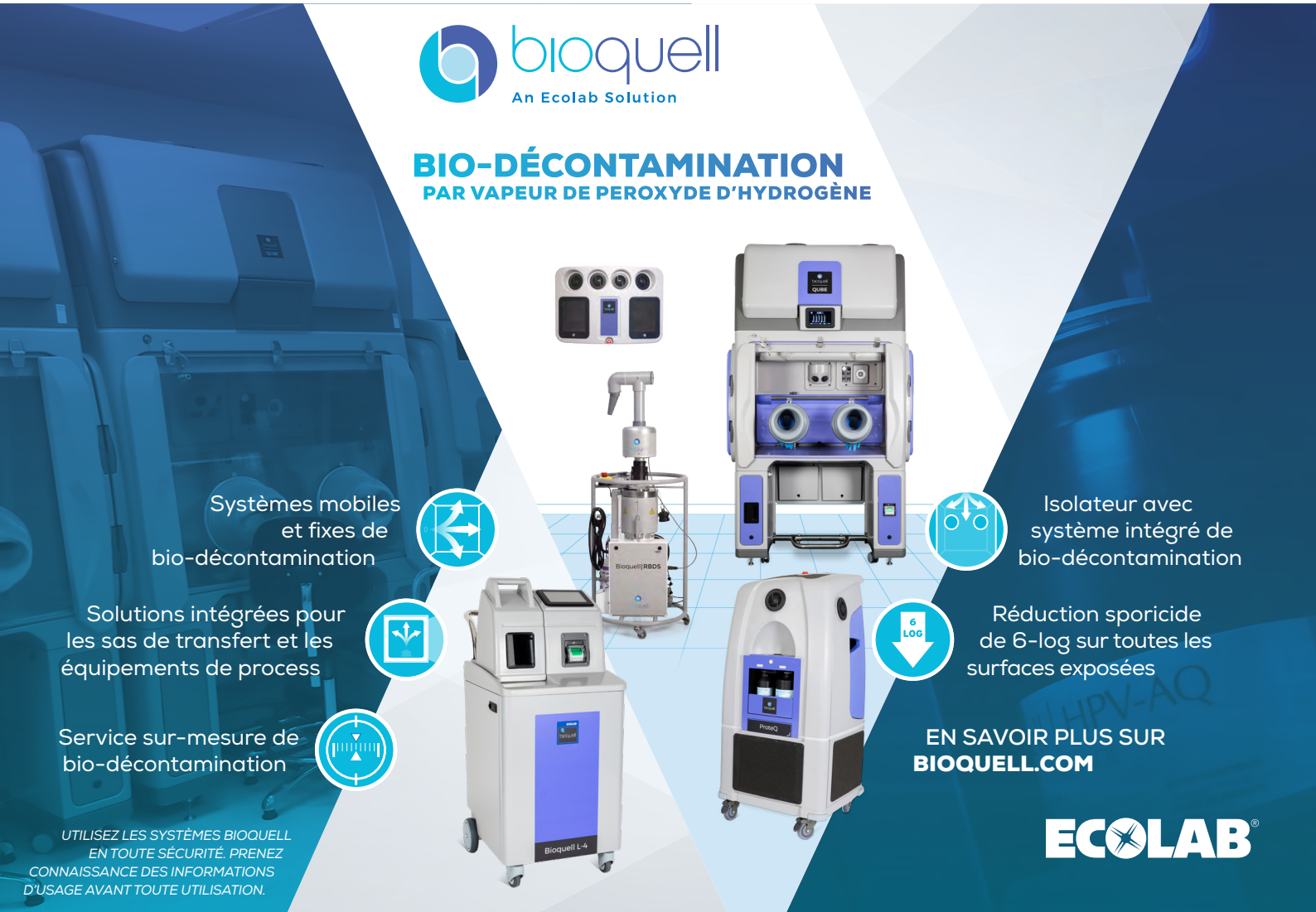
Le gain de cette implémentation de cette séquence automatique est important pour le secteur production. Car il est possible d'enchaîner les différentes étapes (durée totale de 12h) sans intervention humaine et avec un arrêt minime entre le déchargement du lot précédent et du prochain chargement (surtout que les différentes étapes se font de nuit et sans travail en équipe).

Avant la mise en place de cette séquence automatique, il n'était pas possible de réaliser cette vérification de la teneur en silicone après la réalisation de chaque lot.

9. Situation actuelle, suivi à chaque lot, trends et niveau d'alerte.

Les mesures actuelles sont réalisées après chaque lot produit. Les valeurs détectées sont proches de 0 ppm à 100 µbar. Une investigation est en cours pour réaliser la mesure à 10 µbar et de modifier les limites en conséquence.
Voici les nouvelles limites proposées pour le lyophilisateur 2 de 2007

	Limites actuelles à 100µbar	Nouvelles limites à 10 µbar
Baseline moyenne huile de silicone	4 ppm	18 ppm
Limite d'alerte d'huile de silicone = Moyenne + 3 écart-type	11 ppm	36 ppm
Limite d'action d'huile de silicone = Moyenne + 3 écart-type + 18 ppm ou 180 ppm (compte tenu du facteur 10 entre 100 et 10 µbar)	29 ppm	216 ppm



EN 17272. Tout ce que vous devez savoir sur la nouvelle norme relative à la désinfection par voie aérienne automatisée.

Par John CHEWINS - ECOLAB
john.chewins@ecolab.com

La nouvelle norme européenne EN 17272 est le référentiel de tests à utiliser par les fournisseurs de systèmes de désinfection de surfaces par voie aérienne automatisée pour revendiquer une activité antimicrobienne définie. La norme est basée sur la norme française NFT 72-281, mais contient des exigences d'essai supplémentaires telles que l'homogénéité de la distribution du biocide, le temps de contact global de la désinfection par voie aérienne, les micro-organismes spécifiques utilisés et les volumes d'essai de l'enceinte.

Ce document traite du contexte de l'élaboration de la norme et fournit des directives sur son application.
Un système de désinfection de surface par voie aérienne automatisée permet de diffuser un produit à l'état gazeux, par vapeur ou par air comprimé à partir d'un appareil utilisé hors présence humaine. Les technologies les plus couramment utilisées sont les systèmes de désinfection de surfaces par vaporisation ou par nébulisation de peroxyde d'hydrogène ainsi que les appareils de fumigation de formaldéhyde. Cependant, la norme s'applique également à des technologies moins connues telles que les brumisateurs à libération totale (des conteneurs de produit placés dans une enceinte et activés pour libérer le produit) ainsi que les systèmes de désinfection de surface à l'ozone.
En France, les technologies de désinfection de surface par voie aérienne sont soumises à des normes depuis de nombreuses années. La norme NFT 72-281 a été initialement développée et introduite dans les années 1980 et a ensuite été mise à jour plusieurs fois jusqu'à sa dernière révision en 2014.

En 2010, le Comité Européen de Normalisation (CEN) a jugé utile de créer une norme européenne afin d'évaluer les allégations d'efficacité des nombreux systèmes de désinfection par voie aérienne automatisée disponibles sur le marché. Les systèmes concernés visent à désinfecter les surfaces des installations pharmaceutiques ainsi que les zones sensibles des centres hospitaliers. En s'appuyant sur la norme française NFT 72-281 existante et acceptée par l'industrie, un groupe d'experts dirigé par la France a élaboré une nouvelle norme – la norme EN 17272 – pendant plusieurs années. La norme est issue d'un groupe de travail qui énonce les exigences à l'appui des réclamations dans les domaines médicaux, vétérinaires, industriels et agroalimentaires. Bien que fortement basée sur la norme NFT 72-281:2014, la nouvelle norme vise à répondre à certaines des limites identifiées dans la norme NFT 72-281 et à clarifier certains critères tels que le volume d'essai de l'enceinte.

⇢

QUELLES SONT LES QUATRE PRINCIPALES DIFFÉRENCES ENTRE LES NORMES EN 17272 ET NFT 72-281 ?

1. Test d'homogénéité de la distribution

La norme NFT 72-281:2014 exige que l'indicateur biologique soit placé à une distance définie du système de désinfection par voie aérienne automatisée par rapport au volume de l'enceinte dans lequel les essais sont effectués. Les indicateurs sont positionnés verticalement, à une hauteur comprise entre 1,0m et 1,5m du sol, face à l'appareil. Bien que cette configuration indique que le désinfectant et sa technologie de distribution sont capables d'atteindre un certain niveau de réduction microbiologique devant l'appareil à une hauteur de 1,0 à 1,5 m, il ne fournit aucune confirmation que le même niveau de réduction microbiologique soit atteint derrière l'appareil, ou dans les coins de l'enceinte, ou sur des surfaces qui peuvent être horizontales, en particulier celles qui sont orientées vers le sol. La plupart des systèmes de désinfection par voie aérienne automatisée revendiquent une action de la décontamination sur toutes les surfaces exposées ou sur la pièce dans son intégralité. Le critère de la norme NFT 72-281 ne permettait pas d'évaluer une telle allégation. Un test de distribution a été intégré à la norme EN 17272 afin d'évaluer l'homogénéité de la désinfection par voie aérienne automatisée en tout point sur toutes les surfaces de l'enceinte et dans des conditions où les effets de la gravité ou de distribution réduite peuvent affecter le processus. Au total, 8 indicateurs biologiques contenant chacun > 1 x 10^6 UFC de *Staphylococcus aureus* sont positionnés dans les angles de l'enceinte. Deux indicateurs sont situés dans un angle bas de l'enceinte - l'un est orienté vers le mur et l'autre vers le plafond.

Deux autres indicateurs se trouvent dans l'angle haut de l'enceinte, diagonalement opposé aux deux premiers, l'un faisant face au plafond et l'autre au mur. Deux indicateurs se trouvent dans l'angle haut de l'enceinte, en face de ceux situés dans les coins supérieurs. Un indicateur fait face au sol et l'autre face au mur. Les deux derniers indicateurs sont situés dans l'angle bas de l'enceinte, diagonalement opposé à ceux situés à l'autre angle bas – encore une fois, l'un face au sol et l'autre face au mur. La disposition des indicateurs est représentée dans le graphique de la Figure 1. Distance des angles = 50 cm (15 cm pour les petites enceintes).

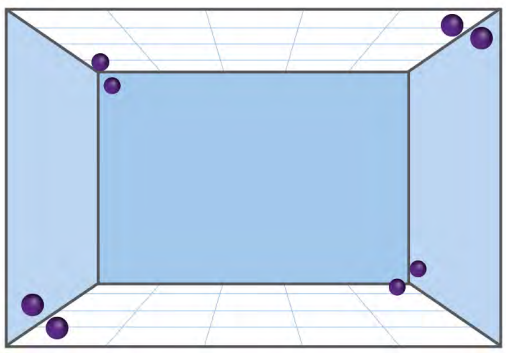


Figure1.

Le système de désinfection par voie aérienne automatisée doit atteindre une réduction de plus de 5-log sur chacun des huit indicateurs biologiques. Si la réduction logarithmique requise n'est pas atteinte sur tous les indicateurs, le système ne peut prétendre passer la norme. Le cycle utilisé pour effectuer l'essai de distribution doit être identique au cycle utilisé dans l'essai d'efficacité de base et le dispositif d'application doit rester au même endroit dans l'enceinte de l'essai.

2. Micro-organismes

Les micro-organismes d'essai dans la norme EN 17272 sont sensiblement similaires à ceux de la norme NFT 72-281 et aux normes d'efficacité du désinfectant EN. Les micro-organismes spécifiques utilisés dans l'essai dépendent des allégations du fabricant concernant l'utilisation de la technologie. Pour revendiquer la conformité à la norme, un fabricant doit, au minimum, satisfaire aux exigences relatives aux essais bactéricides, levuricides et à la distribution. Si un fabricant souhaite appuyer une allégation, par exemple, d'activité contre des virus en milieu hospitalier, il devra satisfaire aux exigences bactéricides, levuricides et virucides pour le domaine médical en plus du test de distribution. Le tableau 2 présente les micro-organismes d'essai et les réductions logarithmiques requises à l'appui d'une allégation de conformité.

Des micro-organismes d'essais spécifiques s'appliquent pour les différentes zones d'utilisation et bien que les exigences de réduction logarithmique soient généralement les mêmes pour tous les domaines d'utilisation, une allégation d'activité sporicide nécessite une réduction logarithmique de 4 dans le domaine médical. L'efficacité contre le *Murine Norovirus* et *l'Adenovirus* Type 5 est nécessaire pour soutenir une allégation d'activité virucide dans les domaines médicaux et industriels, tandis que le petit virus non-enveloppé Porcine parvovirus est nécessaire pour soutenir une allégation virucide dans le domaine vétérinaire. L'efficacité contre *Acinetobacter baumanii* doit être établie dans le cadre des essais pour appuyer une allégation d'activité bactéricide dans le domaine médical.

3. Volume de l'enceinte

La norme NFT 72-281:2014 était peu précise concernant le volume des enceintes dans lesquelles les essais devaient être effectués. La norme indiquait qu'un volume de 30 m^3 à 150 m^3 devait être utilisé pour établir une allégation d'efficacité mais elle fournissait également des informations sur l'essai de petites enceintes jusqu'à 10 m^3. Les exigences en matière d'essai relatives aux petites enceintes n'étaient pas claires et 10 m^3 n'étaient pas représentatives des petites enceintes tels que les postes de sécurité microbiologique, les isolateurs, les sas de transfert, etc. La norme exigeait également au fabricant d'effectuer des essais dans une grande enceinte supérieure à 150m^3. Cette exigence était impraticable, irréaliste et ne fournit pas de renseignements utiles. La réalisation d'un test selon la norme NFT 72-281 dans une grande enceinte vide n'évalue pas l'efficacité de la décontamination dans l'enceinte mais l'évalue uniquement à l'emplacement des indicateurs biologiques devant le générateur. Les résultats obtenus sont applicables à l'enceinte testée dans les conditions environnementales au début de l'essai. Ils peuvent ne pas être transférables à une autre enceinte de volume égal, mais avec une configuration interne, des matériaux de construction et un rapport surface-volume différents. Il y a peu ou pas de valeur à l'essai.

La norme EN 17272 améliore la clarté des exigences d'essai par rapport au volume de l'enceinte. Concernant les enceintes de petits volumes, les fabricants doivent effectuer les tests dans une enceinte d'un volume compris entre 0,25 m^3 et 4,0 m^3. Pour les revendications d'utilisation dans des enceintes supérieures à 4 m^3, les fabricants doivent utiliser

⇢

Groupe	Variétés	Réduction en log requise		
		Secteur Médical (PT2)	Secteur Vétérinaire (PT2 - PT3)	Secteur Industriel & Agroalimentaire (PT2 – PT4)
Bactéries	*Pseudomonas aeruginosa*	Non-Applicable	5	5
	Staphylococcus aureus	5	5	5
	Enterococcus hirae	5	5	5
	Escherichia coli	5	Non-Applicable	5
	Acinetobacter baumanii	5	Non-Applicable	Non-Applicable
	Proteus hauseri	Non-Applicable	5	Non-Applicable
Spores	*Bacillus subtilis*	4	3	3
Champignons et Levures	*Candida albicans*	4	4	4
	Aspergillus brasiliensis	4	4	4
Virus	Murine Norovirus	4	Non-Applicable	4
	Adenovirus Type 5	4	Non-Applicable	4
	Porcine Parvovirus	Non-Applicable	4	Non-Applicable
Mycobactéries	*Mycobacterium avium*	4	4	4
	Mycobacterium terrae	4	Non-Applicable	4
Bactériophage	*Lactobacillus lactis P001 + 8*	Non-Applicable	Non-Applicable	4

Tableau2

une salle dont le volume est compris entre 30 m³ à 150 m³. L'exigence peu pratique et inestimable de tester dans de grandes enceintes de plus de 150 m³ a été supprimée.

La norme EN 17272 reconnaît que l'essai dans une enceinte vide n'est pas équivalent à l'essai dans une salle de volume identique contenant une charge (poste de travail, équipement, etc.). La norme indique clairement que son objectif est de fournir un référentiel de tests permettant de confirmer l'efficacité d'un système de désinfection par voie aérienne automatisée. La norme identifie que chaque cycle de décontamination est unique et que les cycles doivent être validés en pratique à l'aide d'indicateurs biologiques appropriés ou d'indicateurs chimiques étalonnés. Cette exigence appuie la position de l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) détaillée dans la section 8 de l'accord technique sur l'efficacité des biocides.

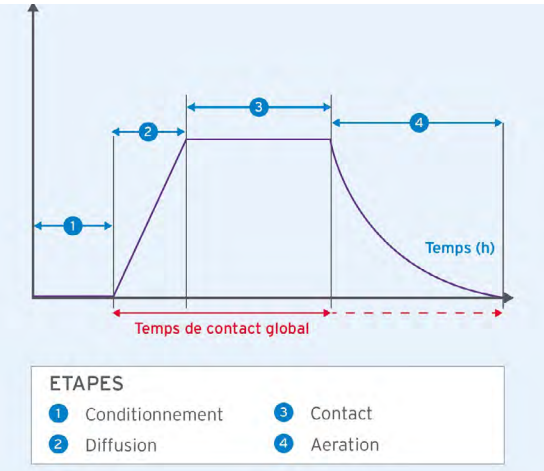


Figure3

4. Temps de contact global de la désinfection par voie aérienne

Un cycle de désinfection par voie aérienne automatisée se compose de 4 phases :

Conditionnement – Préparation et conditionnement du système de désinfection par voie aérienne automatisée et de l'enceinte à décontaminer en vue de l'introduction du gaz, de la vapeur ou de la nébulisation.

Diffusion – Introduction du gaz, de la vapeur ou de la nébulisation

Contact – L'agent désinfectant reste en suspension sur les surfaces de l'enceinte.

Aération – Élimination du désinfectant afin de réutiliser l'enceinte.

La norme NFT 72-281 prenait en compte uniquement le temps de contact et non le temps global pendant lequel le désinfectant a été en contact avec les surfaces de l'enceinte. Par exemple, le système A pourrait injecter 20 g/m³ de désinfectant sur une période d'une heure et avoir un temps de contact de 10 minutes, et le système B pourrait injecter 20 g/m³ sur une période de 15 minutes et avoir un temps de contact de 10 minutes. Les cycles et les temps de contact réels associés avec la surface sont très différents, mais les temps de contact signalés sont identiques à 10 minutes. La norme EN 17272 introduit le concept de temps de contact global de la désinfection par voie aérienne pour représenter plus précisément le temps de contact global de l'agent désinfectant. Cette période débute lors de la diffusion du désinfectant dans l'enceinte et se termine au début de l'aération.

Si aucun processus d'aération n'est utilisé, cette période se termine lors de la récupération des indicateurs biologiques. Si l'aération est utilisée, les détails du taux d'aération doivent être inclus dans le rapport d'essai.

5. Rapports de la norme EN 17272

La norme EN 17272 fournit des instructions sur les informations à inclure dans le rapport d'un essai et comprend :

- Identité du laboratoire d'essai
- Nom du produit (désinfectant) et de l'appareil à l'essai

⇢

- Type de distribution (vaporisation, brumisation, nébulisation, atomisation, etc.)
- Numéro de lot du produit désinfectant
- Numéro de série de l'appareil
- Type d'indicateur biologique utilisé
- Distance entre l'appareil et les indicateurs
- Schéma à l'échelle de la configuration du test
- Temps de contact global
- Temps de diffusion
- Temps de contact
- Temps d'aération
- Taux d'aération (ou taux de renouvellement d'air)
- Quantité de désinfectant utilisé
- Volume exact de l'enceinte de test.

Le rapport d'essai doit indiquer le ou les groupes de micro-organismes qui ont fait l'objet d'essais et indiquer si les résultats des essais sont "conformes" ou "non conformes" aux exigences de l'essai. Pour l'essai de distribution, une réduction de 5-log doit être obtenue pour chaque indicateur biologique.

Les organismes de réglementation et les acquéreurs de systèmes de désinfection par voie aérienne automatisée devraient demander des copies du rapport d'essai EN 17272 du fabricant et en examinant les données d'essai pour déterminer les conditions dans lesquelles le système a été testé. Les fabricants peuvent revendiquer la conformité à la norme EN 17272 sur la base de tests contre les bactéries végétatives et la levure. Les fabricants qui cherchent un système pour traiter les spores (comme Clostridioides difficile), les champignons ou les virus (comme le SARS CoV2) devraient s'assurer que le système a été testé par rapport aux micro-organismes d'essai pertinents pour appuyer ces allégations. Les utilisateurs devraient évaluer les allégations des fabricants relatifs au temps de contact global, car les fabricants peuvent uniquement déclarer le temps de diffusion du produit (parfois appelé temps d'application) ou le temps de contact, ce qui peut entraîner une sous-estimation de la durée globale du cycle du système.

Conclusion

La norme EN 17272 structure et améliore les fondements élaborés par la NFT 72-281. Le document d'orientation sur l'efficacité PT 1-5 du règlement européen sur les produits biocides (BPR) identifie l'utilisation de la norme européenne dans l'évaluation des applications de produits biocides impliquant des systèmes de désinfection par voie aérienne automatisée.

Le système Bioquell de bio-décontamination par vapeur de peroxyde d'hydrogène a été testé dans des petites et grandes enceintes selon la norme EN 17272, pour les domaines médicaux, vétérinaires, alimentaires et industriels et soutient les allégations relatives à l'activité bactéricide, mycobactéricide, sporicide, fongicide, levuricide et virucide. Une gamme d'indicateurs biologiques et chimiques calibrés est proposée, qui peuvent être utilisés pour vérifier la performance du cycle de désinfection par voie aérienne tel que requis dans la norme EN 17272 et dans l'accord technique d'efficacité sur les biocides de l'ECHA.

STERI SERVICES

CONDITIONNEMENT
STÉRILISATION
DE DISPOSITIFS MÉDICAUX

Stérilisation
Oxyde d'éthylène/
Chaleur humide

- 300 m2 de salle ISO 7
- Packaging sur mesure
- QI/QO/QP
- Test de vieillissement
- Stérilisation Oxyde d'éthylène/Chaleur humide
- E-learning stérilisation OE

CONSEIL

Nos équipes vous guident dans le choix de prestations adaptées à votre profil

360°

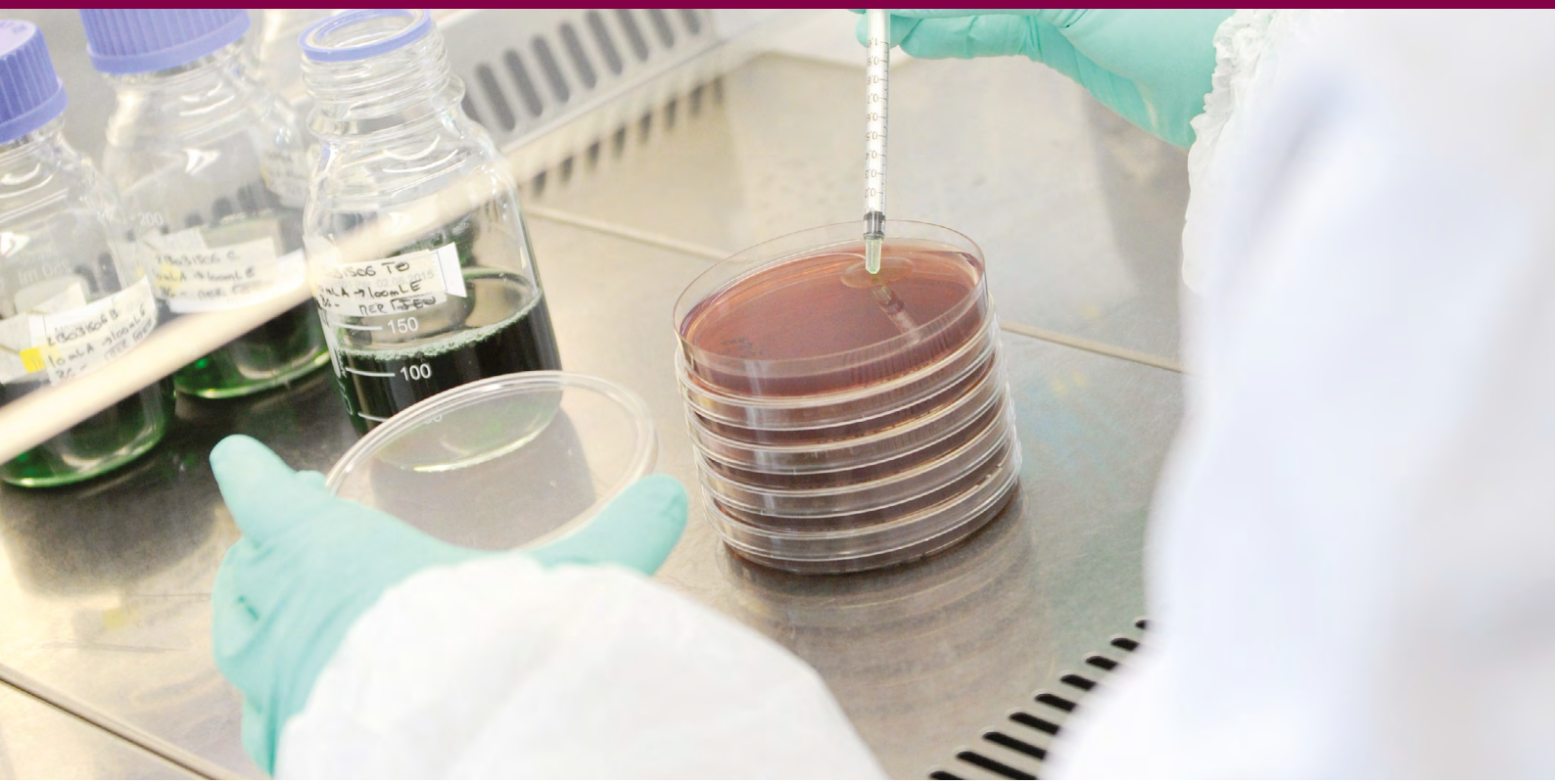
FULL SERVICE

Accompagnement personnalisé, de la conception à la stérilisation sur un même site

Steriservices
20 rue des canadiens
27 300 Bernay
02.32.43.00.19
www.steriservices.com

confarma

Access our expertise



Discover our expert portfolio of microbiological analytical solutions

MICROBIOLOGY

- Sterile & non-sterile testing
- Compendial & rapid microbiology methods, qPCR methods
- Endotoxins testing & MAT (*in vitro* pyrogen test)
- Contaminants (microorganisms, mycoplasma, virus, proteins, DNA, RNA, etc.)
- Qualification of production environment (microbiological and particles monitoring, water loops, gases, air, laminar flows, etc.)
- Disinfectant efficacy testing
- Biological indicators

Confarma France SAS
ZI rue du Canal d'Alsace, 68490 Hombourg, France
+33 389 83 37 20 | sales@confarma.fr

Confarma is a Solvias Group company

www.confarma.fr