



La norme EN 17141

« Maîtrise de la biocontamination », en attendant la future ISO 14644-20

Journée technique normative , 16 Juin 2022

Sabine Bessières Recasens

Expert en microbiologie et surveillance de l'environnement en salle propre

Field Marketing Manager Europe

Biomonitoring Life Science

Merck

Experte française de la commission AFNOR pour la norme européenne EN 17141 et les normes internationales ISO 14698-1 & 2, ISO 14644 20

Introduction

- **Depuis août 2020, la norme européenne EN 17141 remplace en Europe (France) l'ISO 14 698 parties 1 et 2 (Version NF n'étant plus en vigueur depuis 10-2020)**
- Les deux normes reposent sur l'application d'un système formalisé de maîtrise de la biocontamination
- **La future norme ISO sur la Maitrise de la biocontamination en salles propres devrait être intégrée dans la série de l'ISO 14644 (20)**

Discussion sur l'introduction dans la série de l'ISO 14644

Consensus des WG-05 CEN experts : se rapprocher de la mission des comités travaillant sur les salles propres

Séparation des applications sur la microbiologie

Faciliter l'élaboration de la future norme ISO

Début de l'intégration de la notion de particules viables et non viables (EN 17141)

L' EN 17141

- Le terme « environnement propre maîtrisé » désigne les **salles propres, les zones propres, les zones maîtrisées, les surfaces propres et les espaces propres**

- Recommandations sur :

des pratiques à utiliser pour **établir et démontrer la maîtrise de la contamination microbiologique aérienne et de surface**

la qualification et la vérification des environnements, afin de démontrer que le process de production, ou l'activité est sous contrôle (stabilité des limites de la biocontamination)

Pour maîtriser, il est important de comprendre les risques de contamination microbiologique.

- Analyser le risque de contamination & le maîtriser en se basant sur ICH QRM, HACCP, etc.
- ***Se limiter à la contamination microbiologique viable sans considérer la contamination par endotoxine, par prion et par virus***
- Etablir le principe d'un système formalisé de maîtrise du risque et en faire la démonstration (surveillance de l'environnement propre)
- Fixer les limites de contamination et fixer des niveaux d'acceptation lors de la Surveillance.
- Revue des applications dans les secteurs opérant en environnements propre
- Inclure quelques tables de niveaux typiques de contrôles de la biocontamination pour certaines applications dans des Annexes INFORMATIVES

Par rapport à l'ISO 14698 1&2 :

- **Meilleure structure**
- **Revue des méthodes utilisées et de la métrologie de mesurage de la contamination dans les environnements propres (ex D50)**
- **Intégration d'avancées scientifiques , méthodes de RMM/ IMD**

A Applications des sciences de la vie, pharmaceutiques et biopharmaceutiques (3)



B Applications des dispositifs médicaux (10)



C Applications hospitalières et des secteurs de santé (2)

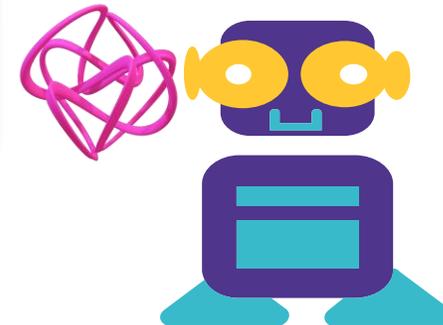
D Applications agroalimentaires (4)



E Méthodes de mesures microbiologiques avec mise en culture et la vérification des échantillonneurs (bio collecteurs d'air) (12)

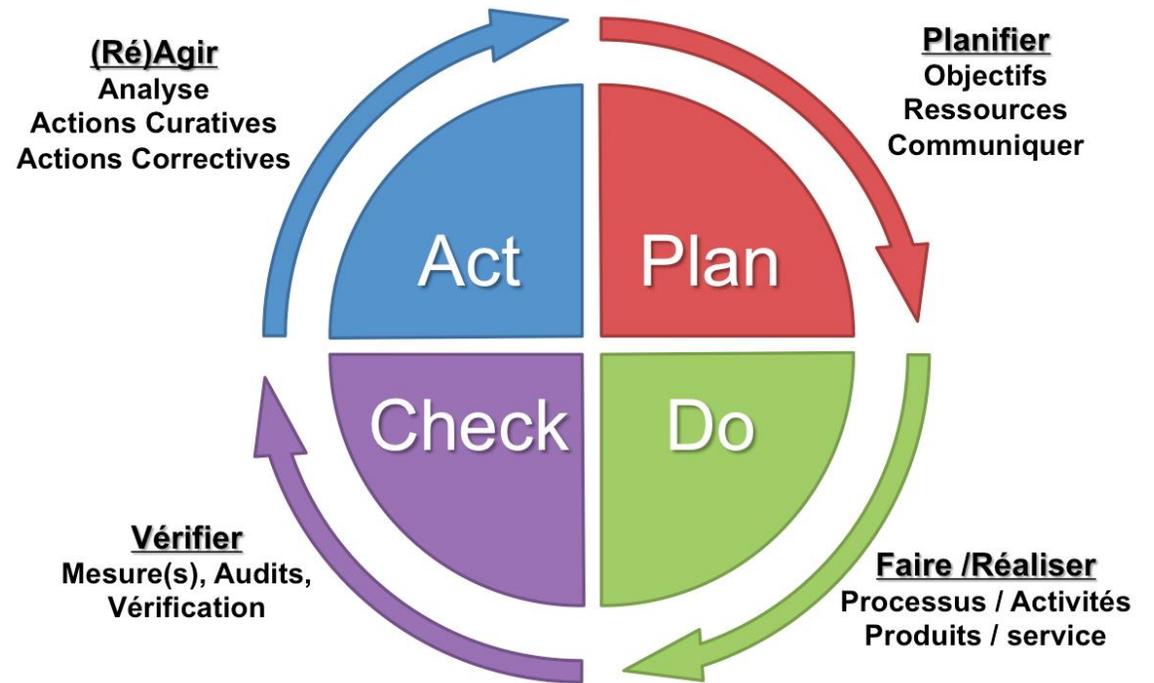
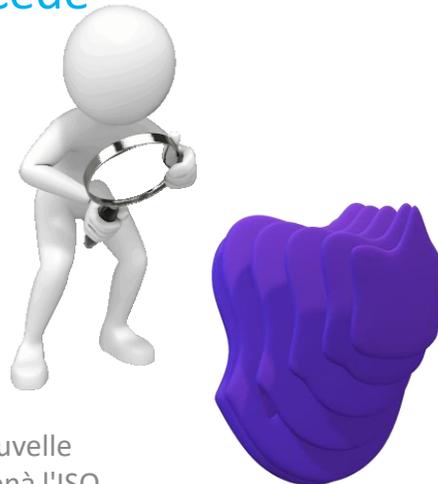


F Méthodes microbiologiques rapides (RMM) et méthodes alternatives de détection microbologique en temps réel (3)



Apport de la norme EN 17141

- Application d'une boucle **PDCA (Plan Do Check Act)**
- Il s'agit pour assurer la qualité :
 - D'établir un système formalisé pour maîtriser les taux de contamination microbiologiques permis
 - Le mettre en œuvre
 - Le maintenir dans un procédé d'amélioration continue



Validation des préleveurs d'air - *Annexe E (E5)*

- Efficacités de collecte physique et biologique
- Techniques de prélèvement à valider et valeurs conservées par l'utilisateur.
- Efficacités de 50 % admises si l'efficacité réelle est connue avec un coefficient de variation suffisamment faible. (Méthode avec une faible efficacité et forte variation non acceptable)

Notes : exemples de débit mentionnés au (E.2.1) de la norme

- Méthode complexe décrite dans les deux normes ISO 14698-1 et EN 17141, sans différences significatives.
- **EN 17141 : méthode de validation préférablement réalisée par un organisme externe compétent et efficacité démontrée par le fournisseur**
- Requalification d'un instrument qualifié non exigée

Validation des préleveurs d'air

Annexe E (E5)

Efficacité physique : Capacité de l'appareil à capter des particules de diamètre différent.

Formalisée par la valeur d50 : diamètre aérodynamique équivalent à la taille de particule pour laquelle l'appareil prélève 50 % des particules dans l'air.

Formule simplifiée avec D_h = diamètre hydraulique = diamètre du trou du crible ...; V = vitesse d'impact (m/s).

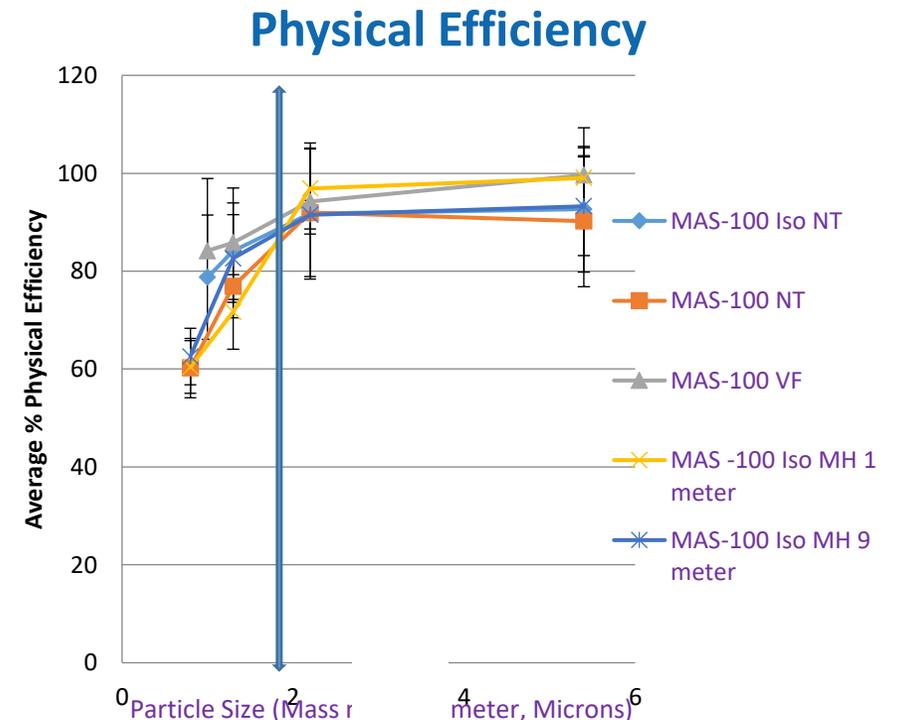
Critère : $d_{50} < 2 \mu\text{m}$ nouveau

Ce critère non spécifié dans l'ISO 14698-1.

. Tests à réaliser dans une enceinte appropriée

Exemple :

MAS-100® systems validated according ISO 14698-1 annex B (Guidance in validating air samplers) by an independent organism.



Validation des préleveurs d'air - *Annexe E (E5)*



Efficacité biologique

Prise en compte des pertes liées à l'efficacité de collecte physique et de l'effet du prélèvement sur la viabilité des micro-organismes.

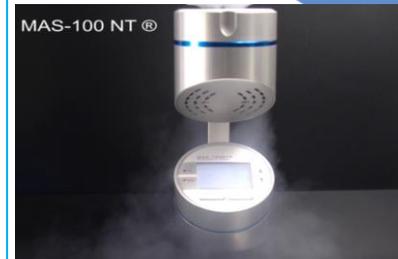
Génération d'un bioaérosol : Staphylococcus epidermidis (NCTC 11047, ATCC 14990),

En alternative, **méthode simplifiée** pour validations sur site (Comparaison point par point par rapport à un biocollecteur déjà qualifié qui a, lui, été validé selon le protocole complexe) .

Si l'appareil testé est un instrument validé par le fournisseur selon la méthode décrite dans l'annexe E, une validation simplifiée sur site n'est pas nécessaire

Calcul de l'efficacité biologique

- Nombre de colonies obtenu sur le milieu soumis à l'essai, divisé par le nombre de colonies obtenu sur le milieu de référence
- Critère : $100 \pm 50 \%$.



✓ *no detrimental impact on Grade A and B airflow patterns."*

Vigilance concernant l'effet du système de prélèvement sur le process ou l'environnement

Exigences pour les aérobiocollecteurs un peu plus détaillées dans l'ISO 14698-1, mais globalement elles correspondent à celles de l'EN 17141.

Boîtes de sédimentation pour prélèvement passif

Pour expositions en continu (4 h ou temps à adapter aux conditions de dessèchement de géloses).

Prélèvements de surface

Boîtes contact ou lames Pour surfaces plates et accessibles des salles propres
Méthode décrite

Écouvillons typiquement utilisés pour prélever les surfaces irrégulières ou difficilement accessibles où il n'est pas possible d'appliquer une boîte contact. -*Pour la culture directe, 2 écouvillons (l'un humidifié et le second sec)*

Dans les applications de BPF en Sciences de la Vie , en classe A où aucune croissance microbienne du tout n'est attendue, les résultats peuvent être exprimés en "croissance" ou "non croissance"

.



Milieux de culture

- Stériles (irradiés dans leurs emballages sécurisés).
- Faible sélectivité pour la recherche de bactéries et de champignons : TSA (ou plus sélectif pour la recherche de flore fongique : Sabouraud Dextrose si app. appropriée)
- Neutralisants de désinfectants comme Lécithine et Tween (*E.4.4*), pour éviter les faux négatifs.
- Tests de fertilité : Fertile si 50 % à 200 % de micro-organismes d'essai se développent. (*sur chaque lot de milieux ou, le cas échéant, en fonction des performances avérées des milieux.*) La capacité des milieux de culture à récupérer de faibles niveaux de cultures d'essai est à vérifier.

Milieux de culture et incubations : programme de vérifications en tenant compte du fait que le milieu ne génère ni faux positifs ni contaminations croisées



Méthodes culturelles et moyens d'analyse

Incubateur *Nouveau*

Qualifié avant utilisation

Requalification périodique (tous les trois ans)

Cartographie des températures

Surveillance en continu de la température

Conditions d'incubations :

- pour la croissance des bactéries : 30 à 35 °C minimum de 3 jours ;
- pour la croissance des champignons : 20 à 25 °C minimum de 4 jours.

Important : Conditions très dépendantes de la population de **germes d'intérêt** à dénombrer.

Temps et températures justifiés en conséquence.

Selon l'ISO 14698-1 : bactéries : 2 à 5 jours, champignons : 5 à 7 jours.

- Annexe D pour les IAA : niveaux d **par μorganisme d'intérêt (x)**, en tenant compte des taux d'incidence (tableaux).

Tableau 6 : Niveau de contamination microbiologique aéroportée en IAA

NOUVEAUTÉ

Niveau de contamination microbiologique aéroportée (ACL pour l'espèce d'intérêt x)	Limite de dénombrement de particules viables en suspension dans l'air en activité (UFC/m ³)
ACLx1	≤ 1
ACLx2	< 10
ACLx3	< 100
ACLx4	< 100
Selon tableau D.1, annexe D, NF EN 17141, Afnor.	

Tableau 7 : Niveau de contamination des surfaces en IAA

NOUVEAUTÉ

Niveau de contamination des surfaces (SVL pour l'espèce d'intérêt x)	Limite de dénombrement de particules viables sur les surfaces (en UFC)	Zone prélevée en IAA
SCLx1	absent	1 m ²
SCLx2	< 4	1 dm ²
SCLx3	< 40	1 dm ²
SCLx4	< 300	1 dm ²
SCLx5	> 300	1 dm ²
Selon tableau D.2, annexe D, NF EN 17141, Afnor.		

Note (hors norme) : les unités étant exprimées en UFC, les limites de dénombrement portent sur les particules cultivables.

- Annexe C : valeurs courantes aux blocs opératoires**
- AIR en salle d'opérations : concentration inférieure à **100 UFC/m³**. Si actes à risques d'infection, valeur historique : **au plus 10 UFC/m³**.

Niveaux cible, d'alerte et d'action revus et ajustés au besoin, selon l'ISO 14698-1. l'ISO 14698-2 propose un logigramme de traitement des résultats microbiologiques non conformes

Annexe (B) sur la surveillance microbiologique de l'environnement dans les zones de production destinées aux DM.

L'utilisation devrait déterminer le niveau accepté de contamination microbiologique et le(s) type (s) **de microorganisme d'intérêt**.

Directives de références dans les réglementations pharmaceutiques Scinces de la vis notamment

1. FDA guidance - aseptic processing *
2. EMA/PIC/s Annex 1 – sterile medicines *
3. EN ISO 13408 – Aseptic processing of healthcare devices

Annexe B -Arbre décisionnel (Partiel stérile)



1. DM Stérile : stérilisation terminale possible

Évaluation des risques : Exemple de stérilisation donnant une réduction minimale de 6 log des microorganismes et des spores.

Méthode de contrôle microbiologique : Surveillance en dénombrant la flore totale **suffisante** (performance technique correcte de la salle propre.)

Hygiène du personnel

Plan de Surveillance EM:

Dénombrement total (air actif, passif et de surface à faible fréquence), par exemple mensuelle, trimestrielle (...), en fonction de l'activité de production.

2. DM Stérile : aucune stérilisation terminale possible (lié aux propriétés du produit)

Évaluation des risques : toute contamination est un risque potentiel.

Méthode de contrôle microbiologique :

Outre le contrôle de l'environnement (air, surfaces), **toutes les sources de contaminations constituent un risque potentiel de contamination microbiologique.**

Plan de surveillance EM :

Air et surfaces (air actif, passif et contrôles de personnel...)

**Prise en compte de la contamination microbiologique des matériaux entrants (Personnel de chaque équipe)
Surveillance microbiologique à fréquence élevée (par exemple par équipe ou quotidiennement, fonction de l'activité de production)**

Annexe (B) sur la surveillance microbiologique de l'environnement dans les zones de production destinées aux DM.

Exemple de limites pour la surveillance microbiologique des salles propres de fabrication des DM

Catégorie s	Prélèvements d'air Ufc/m ³	Boîtes de sédimentation (d:90 mm) cfu/4h ^a	Boîtes contact(d : 55 mm) ufc/boîte	Empreinte de gants 5 doigts ufc/gant
1^b	< 1	< 1	< 1	< 1
2^b	10	5	5	5
3	100	50	25	N/A
4	200	100	50	N/A
<ul style="list-style-type: none"> Niveaux d'alerte et d'action/ analyse de risque et suivi de tendance . Si dépassements : SOP précisant les actions correctives à mener Endotoxines et pyrogènes à considérer dans l'analyse de risque de certains DM comme les implantables NOTE : Valeur moyenne des MO cultivables 				
^a Les BS exposées max 4 h, (Analyse de risqué).				
^b Les limites pour cette catégorie relèvent de procédés aseptiques des DM stériles comme tissus ou cellulaires . CF EN ISO 13408-7				

Comment démontrer la maîtrise de la biocontamination

EN ISO 18593 (agro alimentaire) pour la pratique des milieux

Méthodes de prélèvement

- **Air actif** - au moins 100 l (ou plus, en fonction du niveau de contamination admis). **Tableau avec exemples de fréquences**
- **Air par sédimentation 4 h**
- **Surfaces (boîtes contact ou écouvillons stériles) .**

Plan de surveillance environnementale

Nombre et emplacements **selon analyse de risques** **Pour chaque emplacement à risque, Air actif et surface.**

Si aucun autre critère n'est défini dans l'analyse de risque:

- **Air actif: N/3 avec un minimum d'un** (Un tableau sera donné)
- **Surface: 3 + N/3 sur chaque zone de travail.**

N = nombre minimum d'emplacements selon la norme EN ISO 14644-1: 2015, tableau A.1

Nombre minimum de points de prélèvements d'air actifs et fréquences

Exemples de surfaces de salles propres de fabrication en m ²	Nombre de points de prélèvements minimum
≤ 8	1
>68 ≤ 104	5
>436 ≤ 1 000	9
> 1 000	Utiliser une formule
ISO Class EN ISO 14644-1	Monitoring (routine)
5	Par équipe
6	Jour travaillé
7	Hebdomadaire
8	Mensuel

Surveillance du personnel

Un exemple fourni de surveillance microbiologique (produit à risque élevé et où la personne a une influence notable sur la qualité du produit.)

La surveillance mise en place dans ce cas fournirait des informations particulièrement importantes dans le cadre de la formation du nouveau personnel .



A mettre en œuvre si apport à la maîtrise et aux mesures microbiologiques

Evolution rapide . Web site de référence donnés en exemple .

Sujet qui sera forcément discuté dans le WG2 ISO sur le contrôle de la Bioconytamination

Méthodes microbiologiques rapides (RMM)

Reposent sur la mise en culture mais se fondent sur des technologies qui réduisent le délai de détection des micro-organismes en phase de croissance active.

Méthodologie familière aux utilisateurs plus facile à comprendre et à mettre en œuvre.

Automatisation.

Méthodes de détection microbiologique en temps réel, alternatives (AMM)

- Ne dépendent pas de la croissance ni de la prolifération des micro-organismes pour favoriser la détection (Pas d'incubation)
- Différentes technologies de détection , plus difficiles à mettre en œuvre.
- Métriques utilisées pour mesurer la contamination microbiologique : unités applicables pas directement comparables aux UFC . (Rapport de 200 possible ?)
- *Il est important d'établir et de comprendre la relation entre les résultats et ceux obtenus par les méthodes établies basées sur la mise en œuvre de techniques culturales.*

Mentionnées depuis 2004 FDA GMP Guidance et le Draft EU GMP Annex 1 Draft (2020)

Pas nouveau pour la Pharma

Validation des RMM et des AMM et résultats OOS Annexe F

- **Démonstration** que la méthode convient à l'utilisation pour laquelle elle est prévue , avec résultats équivalents ou supérieurs à la méthode culturale

Indications qualitatives et quantitatives concernant les paramètres de validation recommandés (Référence au PDA TR33, EP 5.1.6 et USP <1223>)

Vérifications:

En cas d'essais du fabricant insuffisant, recourir à un organisme d'essai tiers ou justification scientifique solide

Résultat hors des niveaux d'alerte et d'action

Leur utilisation fournit des résultats en temps réel ou en un temps réduit, offrant la possibilité d'agir proactivement

Données facilement transférables +

Analyses de Root Cause sans identification du germe, CAPA ?

-
Particules biologiques détectées ? -

La norme EN 17141 pourrait être le document de départ du travail à venir du groupe WG2 dont la tâche sera d'élaborer la nouvelle norme ISO 14644 -20

Première réunion prévue en Octobre prochain



Sabine.Bessieres-recasens@merckgroup.com

