

N° d'ordre

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie
Spécialité : Chimie pharmaceutique

THEME

**VALIDATION DE NETTOYAGE DE LA LIGNE DE
PRODUCTION FORME SECHE « ONCOLOGIE »**

Réalisé par :

- M^{elle} MATOUK Amina
- M^{elle} DJENNADI Siham

Soutenu publiquement le 14/07/2022, devant le jury d'examen composé de :

M ^{me} OUKACHA Djamila	MCA	à l'UMMTO	Présidente
M ^{me} BENZAOUZ Amina	MCA	à l'UMMTO	Promotrice
Mr TOUAT Yacine	Superviseur contrôle qualité	à PROFAM	Co-Promotrice
M ^{me} BELMAHDI Lila	MAA	à l'UMMTO	Examinatrice

2021/2022



Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier en premier lieu le bon Dieu de nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour réaliser ce travail.

Nous remercions particulièrement notre promotrice **Dr BENAZZOUZ Amina** Maitre de Conférence Classe A à la faculté des Sciences de l'UMMTO pour avoir dirigé ce travail pour son aide, son encouragement, sa générosité et les efforts qu'elle a faits pour nous faciliter le travail et la confiance qu'elle nous a accordé durant toute la période de ce travail.

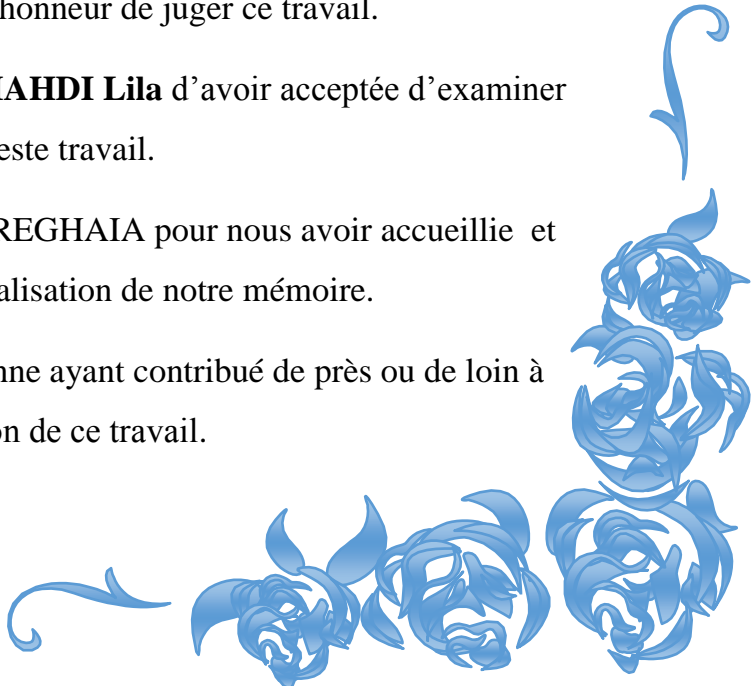
Nous tenons à remercier **Mr TOUAT Yacine**, superviseur du contrôle qualité et **Mr KRITA Bilal** pour leurs aides, et leurs encouragements et le temps qu'ils nous ont consacré.

Nos profonds remerciements à la présidente de jury **M^{me} OUKACHA Djamila** qui nous a fait le grand honneur de juger ce travail.

Nous tenons à remercier **M^{me} BELMAHDI Lila** d'avoir acceptée d'examiner ce modeste travail.

Au personnel de **PROFAM SPA** à REGHAIA pour nous avoir accueillie et nous avoir facilité la réalisation de notre mémoire.

Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.





Dédicaces

je dédie ce modeste travail :

A mes deux raisons d'exister ma très chère **Maman**
et mon cher **Père** qui m'ont procuré que du bonheur tout au long de ma vie.

A mon très cher frère **Tahar** que j'aime beaucoup, qui m'a toujours
soutenue.

A mes très chères sœurs : **Lila, Khelloudja, Lynda, Samira et Nadia.**

A mes deux beaux frères **Larabi et Farid**

A mes adorables neveux **Riad, Khouas, Akram et Amine.**

A mon ancle **Arezki** et toute sa famille.

A toutes mes chères amies **Zohra et Melissa** que j'aime beaucoup
et à qui je souhaite un avenir plein de réussite et de bonheur.

A ma très chère binôme **Siham** avec qui j'ai partagé des moments
inoubliables et a toute sa famille.

A tous mes amies, qui je suis sûre se reconnaîtront sans que j'aie à les citer
tous, merci pour votre soutien, votre amitié et vos encouragements.

AMINA





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A celle qui m'a donné la vie, la confiance, le vrai amour avec beaucoup de tendresse,

L'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A ma très chère mère **Ghenima**, a celui qui m'a donné la force et qui m'a offert tout le soutien dont j'ai besoin, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.

A mon très chère papa **Djamel**.

A mes frères **Belaid** et **Nabil**.

A ma très chère amie **Kahina** que j'aime profondément et à qui je voudrais souhaiter toute la réussite dans sa vie professionnelle et personnelle.

A toutes mes chères cousines que j'aime beaucoup et à qui je souhaite un avenir plein de réussite et de bonheur : **Dalila** et **Celia**.

Merci pour tous les Bons moments et la joie qu'on a partagé ensemble.

Je remercie mon mari **Hicham** ainsi mes beaux parents et mes belles soeurs pour leurs soutiens et leurs encouragements .

C'est avec un énorme plaisir, que je dédie ce travail à ma très chère binôme **Amina** qui a partagé ce travail avec moi, je te remercie pour tous les moments d'amitiés, de joie qu'on a passée ensembles. Et a toute sa famille.

Ensemble nous avons pu mener ce travail à terme.

A tous ceux qui me sont chers.

SIHAM





Liste des abréviations



ISO : L'Organisation internationale de normalisation

BPF : Bonne Pratique de Fabrication

SFSTP : Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques

FDA : Food and Drug Administration

HSE : hygiène, sécurité, environnement

CA : Critère d'Acceptation

NEP : nettoyage en place

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

ARL : acceptable résiduel level

LCQ : laboratoire de contrôle qualité

AQ : assurance qualité

LD : laboratoire recherche et développement

PA : principe actif

NA : Non Applicable

PH : Potentiel d'Hydrogène

Ppm : Partie pour million

PQ : Performance Qualificatif

VN : Validation de Nettoyage

WS: Working standard

DL50 : La dose létale 50

ISO/CEI 17025 : exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais

NF : Norme française

RSD : Relatif Standard Déviation

DMLT : Dénombrement des Moisissures et des Levures Totales

DGAT : Dénombrement des Germes Aérobieux Totaux

LOD: Limit of Detection

LOQ: Limit of Quantification

MAR : Maximum Allowable Résiduel

Ufc : unité formant colonie

Spa : société par action

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Glossaire

Introduction générale..... 1

Chapitre 01 : Revue bibliographique

I. Contamination en industrie pharmaceutique et ces moyens de luttés.....	3
I.1. Définition de la contamination.....	3
I.2. Type de contamination	3
I.2.1. La contamination particulière	3
I.2.2. La contamination microbiologique	3
I.2.3. La contamination chimique.....	3
I.2.4. La Contamination croisée	4
a) Contamination successive.....	4
b) Contamination simultanée	4
I.3. Sources, vecteurs et récepteurs de la contamination croisée.....	4
I.3.1. Les sources	4
I.3.2. Les vecteurs.....	5
I.3. 3. Les récepteurs.....	5
I.4. Les moyens de luttés	5
I.4.1 Maitrise préventive de la contamination	5
I.4.2 Maitrise curatif	5
I.4.2.1. Objectif du nettoyage	6
I.4.2.2. Méthode de nettoyage	6
a) Nettoyage manuel.....	6
b) Nettoyage automatique.....	6
c) Nettoyage semi-automatique	6

I.4.2.3. Mécanisme de nettoyage	6
a. Mouillage	7
b. Déplacement de la salissure.....	8
c. Anti-Re déposition.....	8
I.4.2.4. Facteurs influençant le nettoyage.....	9
I.4.2.5. Les agents de nettoyage	10
a. Le détergent	10
b. Le désinfectant.....	11
I.4.2.6 Les 10 principes du nettoyage à respecter.....	12
II. Validation de nettoyage	13
II.1. Historique de la validation	13
II.2. Définition	13
II.2.1. Définition de la validation	13
II.2.2. Définition de la validation de nettoyage	13
II.3. Différents types de la validation de nettoyage	14
A- Validation prospective.....	14
B- Validation concourante.....	14
C- Validation rétrospective.....	14
II.4. Les acteurs de validation	15
II.5. Prérequis a la validation de nettoyage	15
II.6. Stratégies de la validation de nettoyage	15
II.6.1. Validation du nettoyage selon l'ancienne approche (approche traditionnelle	15
II.7. Méthodes de prélèvement dans l'industrie pharmaceutique.....	16
II.8. Validation des méthodes analytiques	16

Chapitre 02 : Partie expérimentale

I.Objectif	17
II. Matériels.....	17
II.1. Equipement de production	17
III. Méthodes	18
III.1. Choix du produit pire cas « worst case	18
III.2. Regroupement des équipements et le choix de l'équipement « worst case.....	18
III.3. Procédure de nettoyage.....	20

a). Pré nettoyage	20
b). Application de détergent	21
c). Rinçages intermédiaires	21
d). Rinçage final	21
III.4. Détermination des critères d'acceptation	21
III.4.1. Critères d'acceptation en vue d'analyse physicochimique.....	21
III.4.2. Critères d'acceptation en vue d'analyse microbiologique.....	24
III.5. Plan de prélèvement.....	24
III.5.1. L'outil de prélèvement	25
III.5.2. Techniques de prélèvement	25
III.6. Les méthodes d'analyse physico chimique et microbiologique	26
III.6.1. Contrôle physicochimique.....	26
A. Contrôle visuel d'aspect des eaux de rinçage et des écouvillons	26
B. Conductivité.....	26
C. pH	26
D. Substances oxydables	27
E. Recherche de trace de la molécule cytotoxique	27
E.1. Validation de la méthode analytique de dosage de trace de la molécule cytotoxique	27
E.1.1. Méthodologie de test	27
E.1.2. Description de la méthode	28
E.1.3. Working standard	29
E.1.4. Validation des résultats	29
E.1.4.1. Conformité du système	29
E.1.4.2. Spécificité	30
E.1.4.3. Linéarité sur standard.....	31
E.1.4.4. Répétabilité	31
E.1.4.5. Fidélité	32
E.1.4.6. L'exactitude	34
E.1.4.7. Limite de détection et limite de quantification	34
III.6.2. Contrôle microbiologique	35
III.6.2.1. Méthodes par récupération des eaux de rinçage.....	35

III.6.2.2. Méthode par Ecouvillonnage	36
III.7. Validation de la reproductibilité	36
<i>Chapitre 03 : Résultat et discussion</i>	
I. Détermination du produit pire cas worst case	37
II. Détermination de la limite d'acceptation.....	37
III. Plan de prélèvement pour l'équipement pire cas.....	38
IV Résultat d'analyse physicochimique et microbiologique.....	38
IV.1. Résultat d'analyse physicochimique	38
IV.2. Résultat d'analyse microbiologique	46
Conclusion générale	49
Liste des annexes	



Liste des figures



Figure 1. Fibre textile	3
Figure 2. <i>E. Coli</i>	3
Figure 3. Triangle de contamination	4
Figure 4. Diagramme 6M présentant les sources de contamination.....	5
Figure 5. Interactions au cours du nettoyage.....	7
Figure 6. Schématisation de l'action du détergent sur une souillure	7
Figure 7. Mécanisme de déplacement de la souillure	8
Figure 8. Schématisation du phénomène d'émulsifiassions	9
Figure 9. Cycle de SINNER	10
Figure 10. L'isolateur de la compresseuse.....	20
Figure 11. Nettoyage de l'isolateur de la compresseuse	21
Figure 12. Structure chimique de détergent	21
Figure 13. Échelle de propreté des écouvillons.....	22
Figure 14. Écouvillon physicochimique.....	25
Figure 15. Écouvillon microbiologique.....	25
Figure 16. Techniques de prélèvements	26
Figure 17. Ph mètre-conductimètre	27
Figure 18. Chromatographie liquide à haute performance.....	29
Figure 19. Agitation au vortex.....	31
Figure 20. Ultrason.....	31
Figure 21. Matériels, milieux et équipements nécessaire pour le contrôle microbiologique	36
Figure 22. Les différents points de prélèvements.....	38
Figure 23. Résultats des solutions oxydable	40
Figure 24. Linéarité de dosage des traces de la molécule cytotoxique	44
Figure 25. Concentration en molécule cytotoxique pour la limite de détection et de quantification	48



Liste des tableaux



Tableau 1. Le type de détergent à utiliser en fonction de la nature de la souillure.....	11
Tableau 2. Liste de la verrerie utilisée dans la validation du procédé de nettoyage de la forme sèche	17
Tableau 3. Les équipements utilisés pour le dosage des traces de la molécule cytotoxique	17
Tableau 4. Regroupements des équipements de la production	19
Tableau 5. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique	24
Tableau 6. Plan de prélèvement pour l'isolateur de la compresseuse.....	25
Tableau 7. Working standard	29
Tableau 8. Résultats de contrôle visuel de l'aspect des prélèvements	38
Tableau 9. Résultats de contrôle de la conductivité des eaux de rinçages	39
Tableau 10. Résultats de contrôle de pH des eaux de rinçages.....	39
Tableau 11. Résultats de contrôle des substances oxydable	40
Tableau 12. Résultats de recherche des traces de principe actif par écouvillonnage.....	40
Tableau 13. Résultats de recherche des traces de principe actif dans les eaux de rinçages.....	41
Tableau 14. Résultats microbiologiques des écouvillons.....	42
Tableau 15. Résultats microbiologiques des eaux de rinçages	43
Tableau 16. % RSD du pic de la molécule cytotoxique.....	43
Tableau 17. Nombre de plateaux théorique et de facteur de symétrie	43
Tableau 18. Les données de la linéarité de la méthode de dosage de la molécule.....	44
Tableau 19. Répétabilité de la méthode de dosage de trace de la molécule	45
Tableau 20. Résultats des rendements de recouvrements retrouvés par les trois essais de contamination des plaques	46
Tableau 21. Calcul de taux de recouvrement par écouvillonnage.....	47
Tableau 22. Linéarité de dosage de trace de la molécule cytotoxique.....	48

Glossaire

Validation de nettoyage : La validation du nettoyage a pour but d'apporter des preuves documentées que les méthodes de nettoyage des équipements permettent d'éviter des contaminations croisées (chimiques, microbiennes et particulaire) des équipements de production.

Isolateur : Un **isolateur** constitue un équipement moins cher et plus performant que les salles propres **pour l'industrie pharmaceutique**, notamment dans les applications aseptiques. Il permet de créer une atmosphère contrôlée durant les process en respectant scrupuleusement les différentes normes requises. Il assure à la fois la protection du produit, des opérateurs et de l'environnement.

Écouvillon : Brosse ou boule de coton fixée au bout d'une longue tige et destinée à nettoyer une cavité profonde, à faire des prélèvements ou à appliquer des solutions antiseptiques

Approche Worst Case/Pire cas : Consiste à réaliser le minimum d'études de validation, sur des procédures de nettoyage similaires, en identifiant les produits et les équipements les plus critiques pour la réalisation de la validation de nettoyage.

L'intérêt de définir le Pire des Cas ou Worst Case est de réduire le nombre d'essais à mettre en œuvre lors de la validation du nettoyage.

Traceur : une fraction représentative du contaminant qu'on recherche lors de la validation de nettoyage, de deux types : chimique et microbiologique.

Le traceur chimique est le principe actif du produit worst case recherché après nettoyage.

Le traceur microbiologique est la flore microbienne recherché après nettoyage à savoir *DGAT*, *DMLT*, *Pseudomonas.Aeuginosa* et *E. Coli*.

Équipements dédiés par produit : équipements utilisés pour la fabrication d'un seul produit seulement.

Équipements multi produits : équipement utilisé dans la fabrication de plusieurs produits différents.

Working standard L'étalon de travail est défini comme « une substance médicamenteuse de qualité et de pureté établies, comme indiqué par comparaison avec les étalons de référence ». Cet étalon de travail est utilisé pour les analyses de routine. L'étalon de travail est qualifié par rapport à l'étalon de référence de la pharmacopée ou à l'étalon de référence certifié.

The page features a decorative graphic consisting of three blue circles of varying sizes, each composed of concentric circles in different shades of blue. These circles are arranged along a diagonal line that runs from the top-left towards the bottom-right. The background is white with thin, light blue lines that intersect to form a triangular shape on the right side of the page.

Introduction générale

Aujourd'hui, le médicament est l'un des produits les plus contrôlés et les plus sécurisés dans un secteur industriel où la réglementation est toujours plus exigeante ; le marché pharmaceutique constitue un enjeu économique majeur. La fabrication des médicaments de la qualité requise, conforme aux spécifications de leurs dossiers d'autorisation de mise sur le marché doit être la priorité de tout site industriel pharmaceutique. Il est primordial pour l'industrie pharmaceutique d'optimiser ses propres procédés de nettoyage. Tout procédé de nettoyage non maîtrisé est une source de contamination et par conséquent de non-conformité, ce qui entraîne inévitablement des pertes et une augmentation des coûts de production, la contamination croisée est depuis toujours la hantise de l'industrie pharmaceutique.

Le nettoyage des équipements, fait donc partie intégrante du procédé de fabrication et comme toute opération pharmaceutique, il doit faire objet de validation et ce conformément aux exigences réglementaires ainsi qu'aux directives des bonnes pratiques de fabrication appliquée au domaine pharmaceutique, la validation du nettoyage contribue à la sécurité, à l'efficacité et à l'acceptabilité des médicaments. Chaque entreprise pharmaceutique se doit donc de concevoir et de mettre en œuvre une politique visant à garantir que les médicaments fabriqués aient la qualité requise.

Dans les industries où les équipements sont utilisés pour plusieurs formes, il est exigé à l'entreprise pharmaceutique de valider le nettoyage pour chaque produit. Il en résulte un nombre important de validations du nettoyage à réaliser, ce qui engendre des charges supplémentaires au coût du médicament et une perte de temps non négligeable. Afin de palier à ces inconvénients, la stratégie des « pires cas » devient un choix incontournable.

Quelle est alors la meilleure façon d'approcher la validation du nettoyage et quels sont les points critiques à considérer afin d'aboutir à la réussite ?

Dans notre travail, on s'intéresse à la validation d'une méthode de nettoyage d'une ligne de production d'une forme sèche « oncologie » de la filière PROFAM SPA à REGHAIA.

Le médicament appartient à la classe des inhibiteurs de l'aromatase qui entrent en compétition avec l'aromatase, enzyme qui est nécessaire à la synthèse des estrogènes par la glande surrénale et les tissus gras de l'organisme après la ménopause. C'est un médicament pelliculé utilisé dans le traitement du cancer du sein chez la femme ménopausée qu'on note « molécule cytotoxique ».

Le manuscrit est structuré en trois chapitres :

♣ Le premier chapitre présente une revue bibliographique il est subdivisé en deux parties :

La première est la contamination et ses moyens de lutte et la deuxième partie est la validation du nettoyage et sa stratégie.

♣ Un deuxième chapitre correspond au protocole expérimental suivi lors de ce travail, il traite l'une des méthodes de validation de nettoyage pour une ligne de production d'une forme sèche « oncologie » dans une entreprise pharmaceutique multi produits PROFAM SPA.

♣ Un troisième chapitre est dédié à la présentation et l'interprétation des résultats obtenus au cours de ce travail.

Le travail est finalisé par une conclusion générale.

The background features a decorative graphic consisting of three overlapping blue circles of varying sizes, arranged vertically. Two thin blue lines intersect at the top left, forming a large 'V' shape that frames the circles. The text is positioned in the lower-left quadrant of the page.

Chapitre 01 : **Revue bibliographique**

I. Contamination et moyens de luttés

I.1. Définition de la contamination

On entend par contamination : « l'introduction non intentionnelle d'impuretés de nature chimique ou microbiologique, ou de matière étrangère, à l'intérieur ou à la surface d'une matière première, d'un intermédiaire, ou d'une substance active, pendant la production, l'échantillonnage, le conditionnement ou le reconditionnement, le stockage ou le transport »[1].

La contamination d'un lot ou produit peut être imputée à différents facteurs, tels que l'environnement, le personnel, les matières premières, le matériel de fabrication. Il convient donc de distinguer la source et la nature des contaminations pouvant être rencontrées dans l'industrie pharmaceutique, et ce aussi bien sur les sites multi produits que mono-produits [2].

I.2. Type de contamination

Il existe 4 types de contaminations :

I.2.1. La contamination particulaire

Une particule est un objet solide ou liquide, viable ou non, dont son diamètre inférieur au seuil de visibilité qui est de $30\mu\text{m}$ tels que :

- Tellurique,
- Usure des équipements,
- Fibres de vêtements,
- Renouvellement de la peau,
- Procédé de fabrication (opérations mécaniques ou chimiques) [3].



Figure 1. Fibre textile

I.2.2. La contamination microbiologique

La bio contamination est la « contamination d'une matière, d'un appareil, d'un individu, d'une surface, d'un liquide, d'un gaz ou de l'air par des particules viables » [3]. La bio contamination est due à l'introduction des microorganismes (virus, bactéries, levures ou moisissures) dans le produit fabriqué [4, 14].



Figure 2. *E. Coli*

I.2.3. La contamination chimique

Un contaminant chimique est un élément chimiques indésirables sous formes de particules fines (solides, liquides ou de gaz), l'origine de ce dernier dans un produit pharmaceutique est variée. La contamination chimique se fait par les substances actives, les excipients, les produits intermédiaires et les agents de nettoyage. Ces contaminants font l'objet de suivis d'identification

et de quantification, Néanmoins, tous les contaminants chimiques ne seront pas détectés. La plupart des contaminations chimiques ont pour origine une contamination croisée. L'importance du risque varie selon le type de contaminant et de produit contaminé [4].

I.2.4. La Contamination croisée

La contamination croisée est définie par les Bonne pratique de fabrication comme la « contamination d'une matière ou d'un produit par une autre matière ou par un autre produit » le transfert des contaminants par un produit vers un autre se fait au moyen d'un ou plusieurs vecteurs tels que : les mains des opérateurs, eau, surface contaminée...etc.

Dans la contamination croisée, deux cas se figurent :

- a) **Contamination successive** : lorsque les deux produits A et B sont fabriqués dans les mêmes équipements et dans les mêmes locaux.
- b) **Contamination simultanée** : lorsque les deux produits A et B sont fabriqués en même temps mais dans des équipements et locaux différents.

Ainsi le terme de contamination croisée engloberait bien la contamination chimique, particulière ou microbiologique [4].

I.3. Sources, vecteurs et récepteurs de la contamination croisée

La contamination croisée résulte de la relation directe ou indirecte entre ces trois éléments source, vecteurs et récepteurs [5].

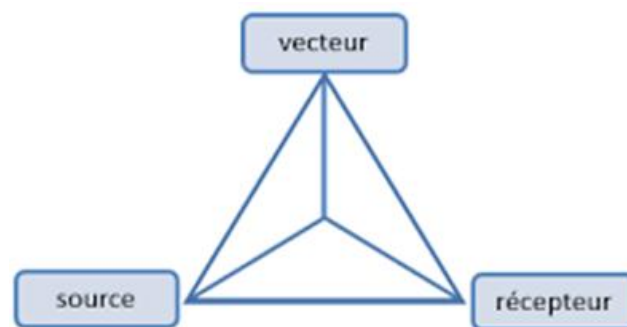


Figure 3. Triangle de la contamination

I.3.1. Les sources

Les sources de contamination croisée sont les matières étrangères à la composition du produit fini en cours de fabrication, mais provenant d'une autre production sur le site. Cela peut être des matières premières (substances actives ou excipients), ou des produits semi-finis.

I.3.2. Les vecteurs

Les vecteurs sont des supports permettant la transmission d'un contaminant vers un autre produit. Plusieurs vecteurs de la contamination croisée ont été identifiés : le personnel, le matériel, les emballages, l'air ambiant, les fluides [5].

I.3.3. Les récepteurs

Les récepteurs peuvent se distinguer par leur sensibilité à la contamination :

- Selon l'état d'avancement dans le processus de fabrication : un produit intermédiaire est généralement plus sensible qu'un produit en vrac.
- Selon la finalité du médicament fabriqué : mode d'administration, objectif thérapeutique, sensibilité du patient, etc.,
- Selon la stabilité ou la compatibilité des substances actives avec les agents contaminants [5].

I.4. Les moyens de luttés

I.4.1 Maitrise préventive de la contamination

La prévention est sans doute le meilleur moyen de lutter efficacement contre toute source de contamination liée à l'environnement, et ce quelle que soit la nature des contaminants (bactériologique, chimique ou particulaire). Le traitement préventif permettra de maintenir les équipements dans un état propre et bien nettoyé avant réutilisation sans que celui-ci puisse être souillé par l'activité ambiante du site de production [6].

Pour limiter la génération de contaminants liés à l'activité, le fabricant se doit de respecter les principes clés dictés dans le guide des BPF qui est basé sur la méthode des 5M :

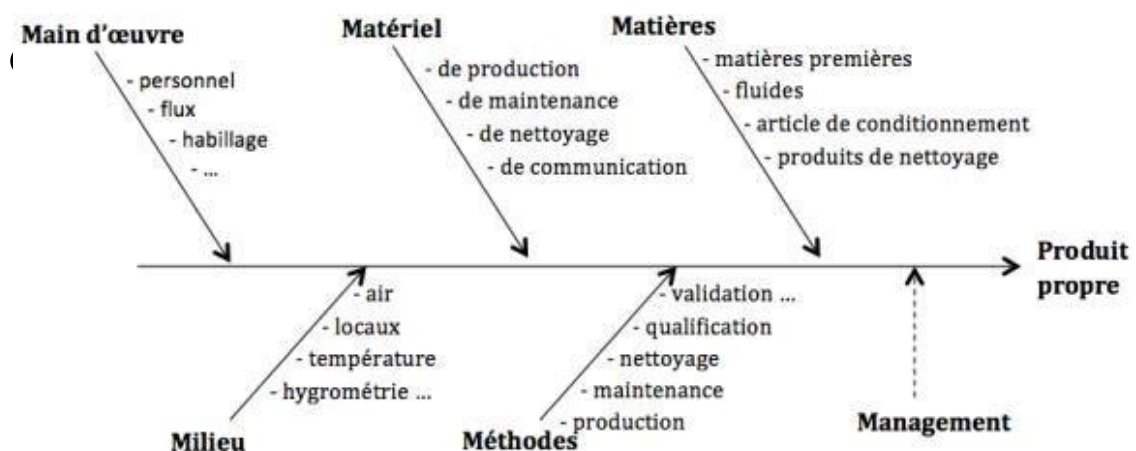


Figure 4. Diagramme 6M représentant les sources de contamination [6].

I.4.2 Maitrise curatif de la contamination

Le nettoyage est l'élément principal du traitement curatif afin de limiter les risques de contamination, il constitue une étape obligatoire de tout procédé de fabrication.

- Selon un rapport d'une commission technique de la société française des sciences et technique pharmaceutique, le nettoyage est « L'action de séparer et d'éliminer des souillures généralement visibles d'une surface. L'objectif à atteindre est du domaine de propreté (visuelle) » [7].

I.4.2.1. Objectif du nettoyage

L'objectif est d'éliminer toutes traces de souillures ou de contaminants afin de maîtriser le mieux possible le risque de contamination croisée. Comme vu précédemment, les contaminants peuvent être d'origine particulière, chimique ou microbiologique [7].

I.4.2.2. Méthode de nettoyage

a) Nettoyage manuel

Le nettoyage manuel nécessite l'implication du personnel. Les opérateurs doivent être formés et habilités à réaliser le nettoyage, cette opération vise à éliminer les résidus par une action mécanique couplée ou non à l'action chimique comme les détergents et les désinfectants.

- Principal avantage : le **ciblage des zones critiques** du matériel difficilement atteignable avec d'autres types de nettoyage.
- Principal inconvénient : est le **manque de reproductibilité** de la méthode [6].

b) Nettoyage automatique

Cette opération ne demande pas une intervention humaine. Ce nettoyage est réalisé par aspersion ou recirculation des fluides ou solvants, et ne nécessite aucun démontage du matériel. L'enchaînement des opérations s'effectue dans des conditions prédéterminées.

- ✓ Principale avantage : Assure une meilleure reproductibilité.
Diminue le risque pour les opérateurs.
- ✓ Principale inconvénient : requiert des installations lourdes et coûteuses [6].

c) Nettoyage semi-automatique

C'est un enchaînement d'opérations de nettoyage manuelles et automatiques qui permet de limiter l'intervention de l'opérateur donc la réduction du risque d'accident lors de la manipulation de détergent. Exemple : le nettoyage par machines à laver industrielles [6].

I.4.2.3. Mécanisme de nettoyage

Le nettoyage est un processus durant lequel les salissures sont séparées d'une surface solide à l'aide d'une solution de nettoyage ou d'un détergent, ce qui permet leurs mises en dispersion ou en solution. On constate qu'au cours d'un nettoyage, trois interactions surviennent [8].

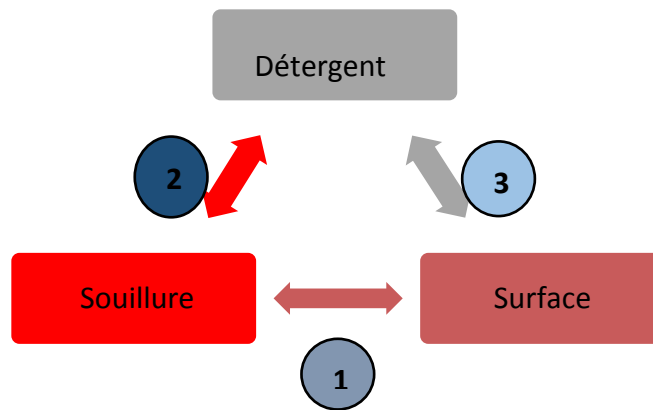


Figure 5. Interactions au cours du nettoyage [9].

Interaction 1 surface – souillure.

Interaction 2 surface – Détergent.

Interaction 3 détergent – surface

Il existe trois phases dans tout type de nettoyage :

- Une phase solide présentée par la surface à nettoyer.
- Une phase liquide ou solide correspond à la souillure.
- Une phase liquide correspond à la solution de nettoyage.

D'une manière générale, on peut noter que :

- ❖ Plus la souillure est petite, plus l'adhésion à la surface sera forte.
- ❖ Plus l'étape de nettoyage intervient dans un délai important après la production plus la souillure est difficile à éliminer.
- ❖ La rugosité du matériel a un impact important sur la difficulté à réaliser le nettoyage [8].

En général, trois étapes se déroulent au cours d'un nettoyage :



Figure 6. Schématisation de l'action du détergent sur une souillure.

a. Mouillage

Le mouillage est la première étape de l'action d'un détergent. Cette propriété de solubilisation ou de dispersion des salissures provient de l'action des tensio-actifs présents dans la formule des détergents. Entre la souillure et la surface, il existe des interactions de type forces électrostatiques de faible intensité, liaisons hydrogènes, interactions de Van der Waals et

interactions hydrophobes, ces forces assurent l'adhésion de la souillure à la surface de l'équipement. Les tensio-actifs migrent aux niveaux des interfaces eau/souillure en contact de la salissure. Ainsi, les tensions inter faciales souillure – surface sont réduites ce qui entraîne le décollage de la souillure [8].

b. Déplacement de la salissure

Le tensioactif possède une forte affinité pour les souillures organiques grâce à ses propriétés physicochimiques. La souillure est fractionnée puis émulsionnée et/ou solubilisée. Cela permet la formation de micelles qui emprisonnent les souillures dans la solution de lavage.

Plus la concentration en tensioactif augmente, plus le phénomène d'émulsion des souillures est important jusqu'à atteindre la concentration micellaire critique (CMC). Au-dessus cette concentration, les micelles se forment spontanément et se solubilisent ou se dispersent dans la solution de lavage [8].

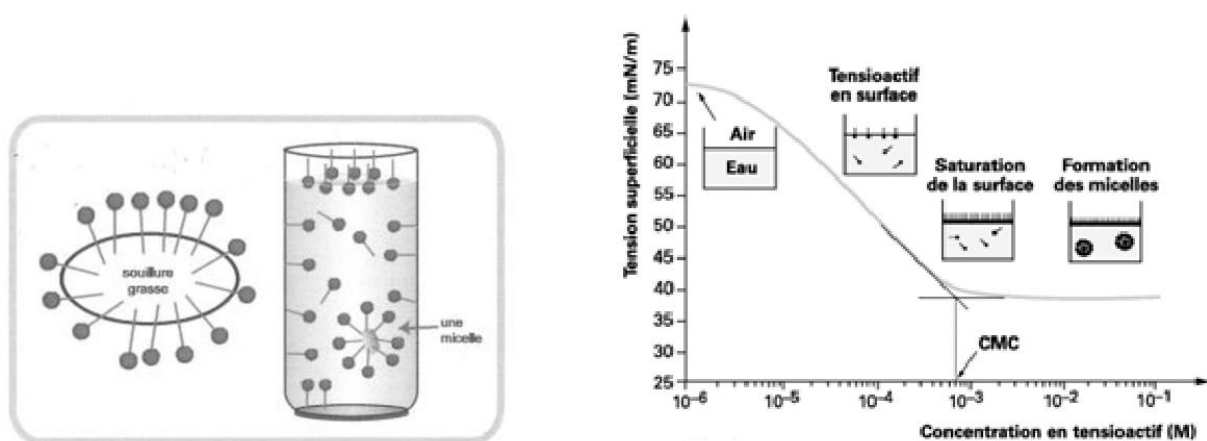


Figure 7. Mécanisme de déplacement de la souillure

c. Anti-Redéposition

Une fois la souillure est écartée de la surface, le rôle du produit détergent est d'éviter dans un deuxième temps que cette salissure ne se dépose sur le support, c'est le mécanisme d'anti-re déposition. Cette action est assurée par l'utilisation des dispersants qui évitent la formation d'agrégats et la sédimentation, ceci soit par :

- Répulsion électrostatique par les agents ioniques en milieu aqueux.
- Répulsion stérique par les agents polymériques non ionique.

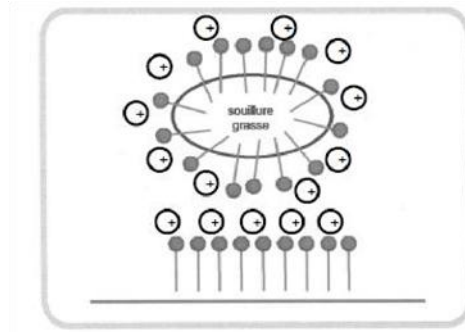


Figure 8. Schématisation du phénomène d'émulsification [8].

I.4.2.4. Facteurs influençant le nettoyage

L'efficacité de nettoyage résulte de la mise en œuvre combinée de quatre facteurs qui sont :

➤ **Action chimique**

L'action chimique est produite par l'utilisation d'un détergent lorsque cela est nécessaire. Comme vu précédemment, le détergent aide à éliminer les souillures organiques ou minérales. Cette action dépend du produit choisi, de son dosage, et de la qualité de l'eau utilisée. L'utilisation d'un détergent peut s'avérer inutile si l'on prouve que la souillure s'élimine parfaitement avec de l'eau seule [11].

➤ **Action mécanique**

L'action mécanique peut être matérialisée par les frottements, l'abrasivité des matériaux de nettoyage (lingettes, microfibres, brosses), la distance et la puissance du jet d'aspersion, ainsi que son angle d'impact. Elle permet de renouveler l'impact de la solution de nettoyage avec la surface à nettoyer, et faciliter ainsi la captation de la souillure par la solution détergente [11].

➤ **Action de la température**

La température permet d'accélérer l'effet nettoyant de certains produits. Elle accélère les réactions chimiques et favorise la pénétration des tensioactifs. Elle agit aussi sur les salissures en favorisant leur détachement des supports [11].

➤ **Action du temps**

La durée de l'action chimique, qui correspond au temps de contact entre le produit détergent et/ou l'eau avec les surfaces à nettoyer, ainsi que la durée de l'action mécanique, sont majeures pour un nettoyage correct et reproductible. L'action combinée de ces quatre facteurs est appelée le « cercle de SINER », représenté sur la figure ci-dessous [11].

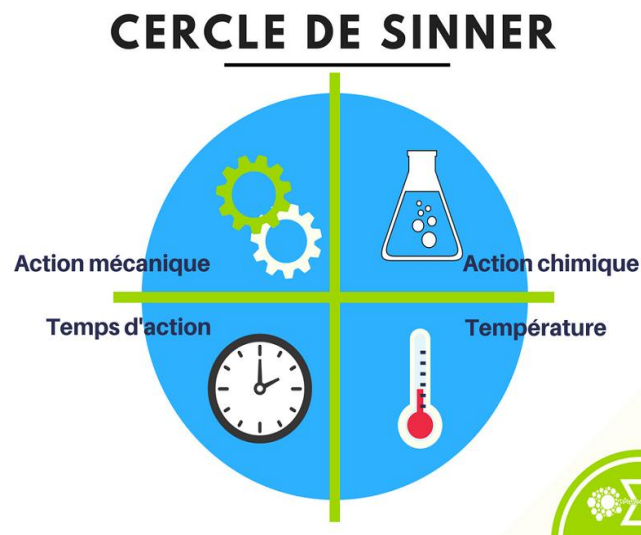


Figure 9. Cycle de SINNER [10].

I.4.2.5. Les agents de nettoyage

a. Le détergent

Selon la norme **Internationale Conférences on Harmonisation 862** le détergent est un : « produit dont la composition est spécialement étudiée pour le nettoyage selon un processus mettant en œuvre les phénomènes de détergence » [12].

Un détergent est choisi de façon à éliminer les souillures sans altérer les surfaces des équipements et ne pas être ni une source, ni un vecteur de contamination.

Les agents de nettoyage utilisés en industrie pharmaceutique sont :

- ✓ Les détergents à caractère alcalin.
- ✓ Les détergents à caractère acide.
- ✓ Les agents tensioactifs.
- ✓ Chélatants [13].

Tableau 1. Le type de détergent à utiliser en fonction de la nature de la souillure [13]

Type de détergent	Composition	Type de souillure	Mécanisme d'action
Alcalins	Bases et sels minéraux ayant un pH > 10 : Hydroxyde de sodium, Hydroxyde de potassium, Phosphate tri sodique, Métasilicate sodique	Souillures organiques : Huile, Graisse, Protéine Carbohydrates	Augmentation de la solubilisation de la souillure ce qui facilite son élimination
Acides	Acides ayant un pH < 4 : solutions diluées d'acide nitrique, phosphorique, chlorhydrique citrique ou mélanges de ces acides	Souillures Inorganique (Carbonates et Bicarbonates de Calcium et de magnésium)	Solubilisation des dépôts minéraux.
Tensioactifs	Tensioactifs anioniques, cationiques et amphotères et les tensioactifs non ioniques	Pas d'action directe sur la souillure mais apporte au détergent des propriétés détergentes	Diminution de la tension superficielle de l'eau en créant des structures micellaires autour de la souillure
Chélatants	Agents complexants et séquestrant: EDTA, Phosphonates.	Ajoutés dans les solutions détergentes pour éviter la formation des dépôts minéraux	Complexation des ions métalliques.

b. Le désinfectant

- **Désinfection** : opération, au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés (norme NF T72-101).
- **Stérilisation** : opération permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes portés par des milieux inertes contaminés, le résultat de cette opération étant la stérilité (norme NF T72-101).
- **Stérilité** : état de ce qui est exempt de microorganismes viables (Pharmacopée Européenne 5 édition) [14].

Les désinfectants les plus utilisés : chlore, alcool éthylique, phénols, aldéhydes, ammoniums, quaternaires, alkylamines, biguanides.

Les BPF recommandent de mettre en place une **alternance** entre plusieurs désinfectants de formulations différentes afin **d'éviter les phénomènes de résistance** dans les zones à atmosphère contrôlée. Tous les désinfectants retenus devront alors être qualifiés [13].

I.4.2.6 Les 10 principes du nettoyage à respecter

Il existe 10 principes à respecter pour garantir la bonne efficacité du procédé de nettoyage :

1. Le processus de nettoyage doit être compatible avec les activités de production (matériels qualifiés et moyens adaptés).
2. Les surfaces à nettoyer ne doivent pas être altérées par le processus de nettoyage (Limiter l'abrasivité du procédé de nettoyage, compatibilité des détergents avec les matériaux à nettoyer).
3. Le nettoyage ne doit pas diluer ou étaler la souillure sur les surfaces.
4. Le nettoyage ne doit pas apporter de contamination supplémentaire.
5. Le nettoyage ne doit pas être un vecteur de contamination par transfert de contaminants d'une zone vers une autre.
6. Le procédé de nettoyage doit commencer dans la zone la plus critique (qui est la plus sensible à la contamination) pour se terminer dans la zone la moins critique.
7. Le procédé de nettoyage doit se dérouler de la zone la plus sale vers la zone la moins sale (Cependant, si ce principe est en contradiction avec le principe 6, le principe 6 est prioritaire).
8. Il faut réaliser le nettoyage d'une zone dans le sens des flux d'air.
9. Le personnel doit être formé et habilité à réaliser les opérations de nettoyage et les équipements doivent être qualifiés. L'opérateur chargé du nettoyage est tenu de respecter le plus justement possible le mode opératoire.
10. Il faut toujours respecter les règles de sécurité lors des opérations de nettoyage pour limiter les risques pour l'opérateur, pour le médicament et pour l'environnement [15].

II. Validation de nettoyage

II.1. Historique de la validation

Des scandales sanitaires ont eu lieu tout au long de l'histoire des médicaments, en 1988 un lot de Choles tyramine Résine USP produite en dehors du territoire Américain a été contaminé par de faibles taux d'intermédiaires de pesticides. Après investigation il a été mis en évidence l'utilisation de bacs de solvants utilisés indifféremment pour la production de pesticides et la production de Choles tyramine, ces bidons mal nettoyés après avoir contenu des pesticides ont servi à la production de Médicaments entraînant la contamination croisée observée.

Plus récemment des problèmes liés au nettoyage ont été publiquement annoncés suite au retrait de lots de Viracept fabriqués par le laboratoire Roche. Des récipients destinés à recueillir des réactifs ont été rincés rapidement par une solution d'éthanol sans attendre l'évaporation complète de l'éthanol. L'un des réactifs était l'acide méthane sulfonique qui a réagi avec l'éthanol par réaction d'estérification.

Le contact de ces deux produits a entraîné la production d'éthyle mesylate, un composé génotoxique, qui a été retrouvé dans les lots de Viracept à des taux allant jusqu'à 120 ppm. Dans les campagnes de production d'octobre 2006 et janvier/février 2007, le produit a ainsi été suspendu de la vente jusqu'à la définition d'action corrective et Préventives suffisantes pour lever cette suspension de commercialisation ; Aujourd'hui le Viracept n'est plus commercialisé en Europe [16].

II.2. Définition

II.2.1. Définition de la validation

Selon les BPF « La validation du nettoyage est une information documentée qu'une procédure de nettoyage approuvé élimine le produit ou les agents utilisés préalablement pour nettoyer l'équipement, de manière reproductible, en dessous du niveau de contamination résiduelle maximale autorisée déterminé scientifiquement » [1].

Food And Drug Administration définit la validation comme étant « l'établissement de l'évidence documentée qui prouve un haut degré d'assurance qu'un processus spécifique produira de façon constante un produit conforme avec ses spécifications prédéterminées et les attributs de la qualité. » [17].

II.2.2. Définition de la validation de nettoyage

- Selon la commission de la **SFSTP Pharma** « Valider un procédé de nettoyage, c'est de démontrer scientifiquement, de manière documentée, que les différentes étapes d'un procédé de nettoyage, conduisent à obtenir une surface ne comportant pas de

contamination résiduelle supérieure à une limite préalablement fixée et ceci d'une manière reproductible. » [18].

Il est nécessaire de valider les procédures de nettoyage pour les raisons suivantes :

- C'est une exigence du patient : la validation de nettoyage nous permet de produire un médicament sur un équipement ne contenant pas des traces d'autres produits dépassent les limites acceptables, elle assure la sécurité et la pureté du médicament.
- C'est une exigence réglementaire FDA , BPF pour la production pharmaceutique.
- C'est aussi une manière de contrôle de la qualité des procédés de nettoyage utilisés en interne

II.3. Différents types de la validation de nettoyage :

La validation de nettoyage est une exigence réglementaire pour assurer la qualité de médicament et bien sur la santé du patient, il existe 3 types de validation :

A- Validation prospective

Validation effectuée avant la production de routine de produits destinés à la vente. C'est l'approche préconisée dans les référentiels réglementaires. La validation est aussi dite prospective lorsqu'elle est effectuée avant la fabrication d'un produit dont le processus de fabrication a été modifié et que ces modifications peuvent affecter les caractéristiques du produit [20].

B- Validation concourante

Validation réalisée durant la production de routine de produits destinés à la vente. C'est la démarche adoptée dans la plupart des cas, puisque la validation de nettoyage est une exigence relativement récente, Et souvent la procédure de nettoyage est appliquée avant d'avoir été validé [20].

C-Validation rétrospective

Validation d'un procédé pour un produit qui a été commercialisé, sur la base des données relatives à la fabrication, aux essais et au contrôle du lot. Les données choisies doivent être représentatives des lots fabriqués, la plupart du temps, la validité du nettoyage n'est pas surveillée en routine et donc les données de contamination résiduelle et de propreté des surfaces ne seront pas disponibles [20].

II.4. Les acteurs de validation

La validation de nettoyage est un processus qui implique l'ensemble de département et de service de l'industrie pharmaceutique. Les principaux services impliqués sont :

- L'assurance qualité
- La production,
- Le service de qualification/validation et

- Le laboratoire de contrôle analytique et microbiologique
- La maintenance et de la logistique [21].

II.5. Prérequis à la validation du nettoyage

Avant d'envisager une validation du nettoyage, il est indispensable d'assurer un environnement adéquat pour la réussite de celle-ci. Seuls les facteurs propres aux procédés de nettoyage doivent être déterminants de son efficacité, d'autres facteurs qui ne font pas partie de ce procédé doivent être connus et maîtrisés au préalable. On parle des prérequis à la validation du nettoyage.

Afin de préparer au mieux la validation de nettoyage, certaines étapes doivent avoir été effectuées, il s'agit de :

- Rédaction de la procédure de nettoyage.
- Qualification du matériel et des agents de nettoyage.
- Qualification des locaux et des équipements à nettoyer.
- Habilitation du personnel chargé du nettoyage [22].

II.6 Stratégie de la validation de nettoyage

La stratégie de validation du nettoyage varie selon la gamme des produits fabriqués dans l'industrie et aussi selon les équipements utilisés, c'est pourquoi chaque industrie doit adopter sa propre stratégie de validation.

La validation dans un site multi produits est complexe et coûteuse c'est pourquoi une démarche est utilisée afin de minimiser le coût et faciliter la tâche [2].

II.6.1 Validation du nettoyage

Selon l'ancienne approche (approche traditionnelle) la validation de nettoyage consiste à réaliser le minimum d'études de validation, sur des procédures de nettoyage similaires, en identifiant les produits et les équipements les plus critiques pour la réalisation de la validation de nettoyage.

L'intérêt de définir le Pire des Cas ou Worst Case est de réduire le nombre d'essais à mettre en œuvre lors de la validation du nettoyage [2].

II.7 Méthodes de prélèvement dans l'industrie pharmaceutique

Selon les BPF partie II Validation de nettoyage : « l'échantillonnage doit inclure l'écouvonnage, le rinçage ou une méthode alternative appropriée afin de détecter à la fois les résidus solubles et les résidus insolubles. Les méthodes d'échantillonnage utilisées doivent être capables de mesurer quantitativement les niveaux de contamination résiduels sur la surface des équipements après leur nettoyage. » [1].

Il existe deux (02) types d'échantillonnage jugés acceptables :

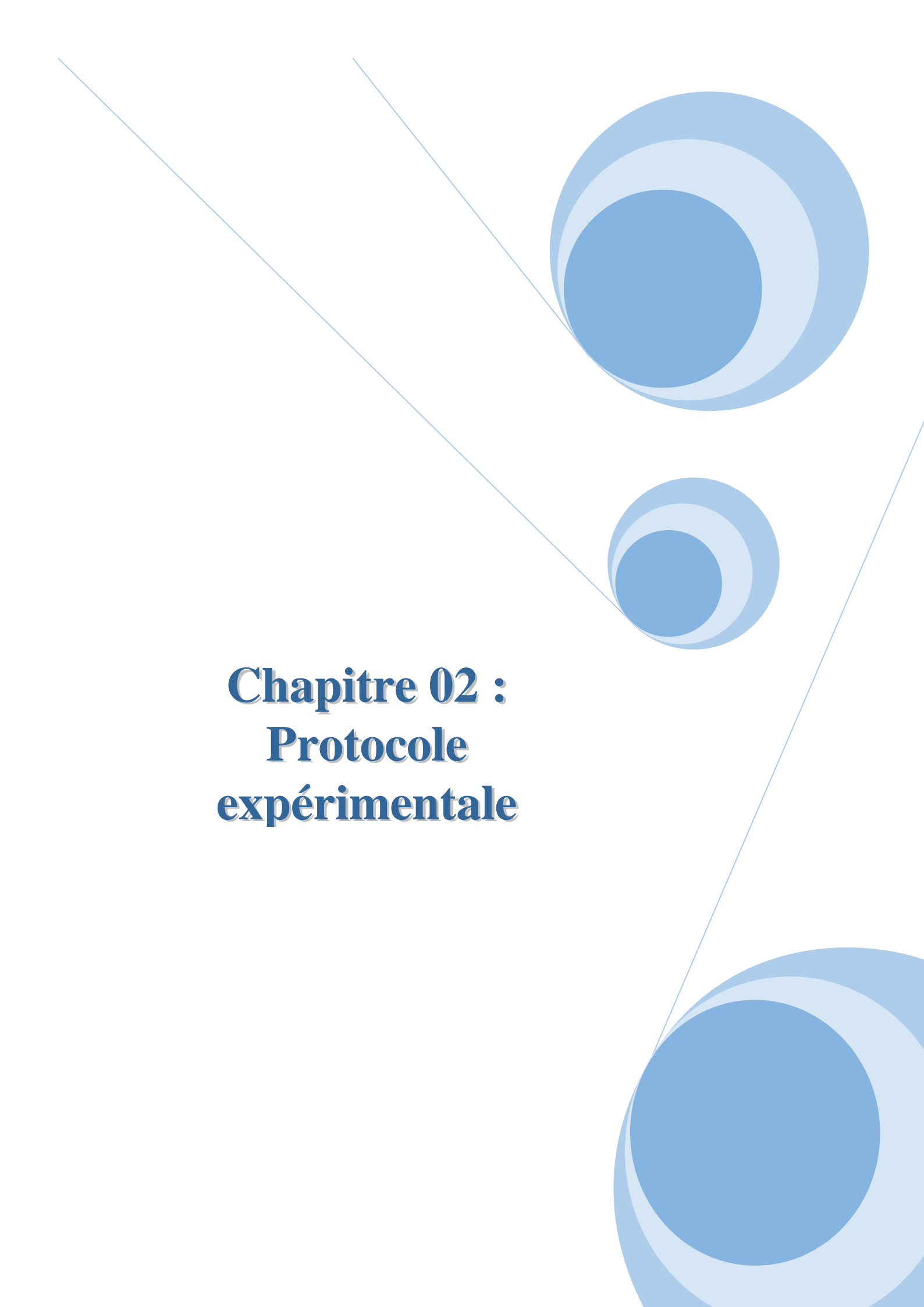
- ✦ **Échantillonnage direct de la surface** : swab test (essuyage, écouvillonnage, contact).
- ✦ **Échantillonnage indirect** : récupération des eaux de rinçage (aspersion) [1].

II.8. Validation des méthodes analytiques

La validation de la méthode analytique permet de démontrer avec des preuves que cette dernière produit constamment des résultats conformes à des standards de qualité spécifiés préalablement et à ses attributs de qualité. Elle démontre ainsi que la méthode est adaptée à son emploi analytique.

La démarche de validation passe en pratique par la mise en place d'un certain nombre de critères dits "critères de validation" :

- ✦ Conformité
- ✦ Spécificité
- ✦ Linéarité
- ✦ Fidélité
- ✦ Exactitude
- ✦ Limite de détection LOD
- ✦ Limite de quantification LOQ [23].

The background features a decorative graphic consisting of three overlapping blue circles of varying sizes, arranged in a diagonal line from the top right to the bottom right. Two thin, light blue lines intersect at the top left and extend diagonally across the page, framing the central text.

Chapitre 02 : Protocole expérimentale

I. Objectif

Cette étude est réalisée dans le cadre d'un stage de fin d'étude dans un site de production de la forme sèche « Oncologie » au sein de l'entreprise **PROFAM SPA**.

PROFAM SPA fondée en 2012 est une filiale du groupe BIOPHARM inaugure sa première unité de production à REGHAIA selon les normes pharmaceutiques internationales, Elle dispose :

- Une ligne de fabrication et conditionnement forme liquides « stick pack »
- Une ligne de fabrication et conditionnement forme sèches « oncologie »
- Service assurance qualité, laboratoire contrôle qualité et toutes les structures d'utilités nécessaires.

L'objectif de ce travail est de définir les prérequis et la méthodologie suivi pour la réalisation d'une validation des procédés de nettoyage des équipements de fabrication des formes sèches oncologie, multi produits de la Production, du site de **PROFAM SPA**.

II . Matériels

Tableau 2. Liste de la verrerie utilisée dans la validation du procédé de nettoyage de la ligne « Formes sèches »

Verreries	Autres
Fioles jaugées : 20 ml, 50 ml, 100 ml Béchers. Eprouvettes : 1000 ml Pipettes jaugées : 1 ml, 10 ml.	Poires. Pissettes. Spatules. Barreaux magnétiques.

Tableau 3. Les équipements utilisés pour le dosage des traces de la molécule cytotoxique

Numéro	Equipement	Utilisation	Paramètres
1	Balance	Pesée	Précision ; 0,01mg
2	HPLC	Identification ; séparation et dosage.	Air de pic chromatographique

II .1. Equipement de production

✚ Description de la ligne formes sèches « oncologie »

Les différentes formes galéniques fabriquées par la ligne des formes sèches sont : les comprimés et les gélules. Chaque forme galénique passe par différents ateliers.

Chaque atelier est constitué d'un isolateur afin de réduire le risque d'exposition des opérateurs.

- Isolateur de la pesée/mélange : contient une balance et un mélangeur bin.

- Isolateur de la compression : contient une presse à comprimer. -KAMBER-
- Isolateur de pelliculage : contient une pelliculeuse. -GANSONS-
- Isolateur de la mise en gélule : contient une géluleuse -ANCHOR MARCK-
- Isolateur de Conditionnement primaire contient une blistéreuse-Elmack

III. Méthodes

La validation de nettoyage de fabrication des formes sèches oncologie, multi produits de la Production s'article sur sept (07) éléments selon l'approche « **pire cas** » / « **worst case**».

- + Choisir un produit pire cas.
- + Choisir un équipement pire cas.
- + Procédure de nettoyage.
- + Détermination des critères d'acceptation.
- + Etablir un plan de prélèvement pour les équipements pires cas en contact direct avec le traceur
- + Méthodes d'analyse physicochimique et microbiologique.
- + Valider la reproductibilité de procédé de nettoyage par la mise en œuvre à trois reprises.

III.1. Choix du produit pire cas « worst case »

Il est présumé que si un équipement devient propre dans les conditions défavorables, il sera aussi nettoyé dans les conditions plus favorables. On a des critères pour le définir :

- **Physico chimique** : le choix du produit pire cas repose sur les critères de solubilité, de nettoyabilité et de toxicité tel qu'est recommandé par les BPF européennes.

Le produit worst case choisi sur le plan physicochimique doit être :

- ✦ Le moins soluble dans l'eau.
 - ✦ Le plus difficile à nettoyer.
 - ✦ Le plus toxique [25].
- **Microbiologique** : Le choix du traceur microbiologique pour la validation du nettoyage est basé sur les critères suivants :
 - ✦ Dénombrement microbien (indice de DGAT + indice de DMLT),
 - ✦ Présence ou absence d'une activité antimicrobienne.
 - ✦ Echelle de nettoyabilité. [24]

III.2. Regroupement des équipements et le choix de l'équipement « worst case »

L'élaboration d'une stratégie basée sur le regroupement des équipements et le pire des cas est l'une des étapes cruciales pour la réussite et la facilité d'une validation du nettoyage, dans la mesure où le pire cas sera l'équipement représentatif de l'ensemble des autres équipements.

Un équipement pire cas d'un groupe correspond à celui ayant :

- La complexité du design (présence de partie difficile à nettoyer).
- La capacité et la taille de l'équipement (les plus grandes).
- L'adhésion des produits chimiques et microbiologique (présence de surfaces moins lisses) [2].

La validation du procédé de nettoyage de l'équipement pire cas d'un groupe entraîne celle de l'ensemble des équipements de ce groupe

Tableau 4. Regroupements des équipements de la production.

Groupe	Equipements	Equipement pire cas	Justification du choix de l'équipement pire cas
Groupe 01	<ul style="list-style-type: none"> - Isolateur de prélèvement - Isolateur de pesée / Mélange - Isolateur de l'IPQC - Isolateur de la compremeuse - Isolateur de la pelliculeuse - Isolateur de la blistereuse - Isolateur du LCQ 	Isolateur de la compremeuse	Continent plusieurs zone de rétention difficile à nettoyer
Groupe 02	<ul style="list-style-type: none"> - Trémie compremeuse - Trémie blistereuse 	Trémie compremeuse	Contact direct avec la poudre
Hors groupe	Compremeuse :		Contact direct avec la poudre
	<ul style="list-style-type: none"> - Feeder (distributeur) - Tourelle - Passerelle de séparation - Dépoussiéreur - Détecteur de métaux - Poinçons 	<ul style="list-style-type: none"> - Feeder (distributeur) - Tourelle - Passerelle de séparation - Dépoussiéreur - Détecteur de métaux - Poinçons 	
	Pelliculeuse :		
	<ul style="list-style-type: none"> - Tambour 	<ul style="list-style-type: none"> - Tambour 	
	Blistereuse :		
	<ul style="list-style-type: none"> - Chut 	<ul style="list-style-type: none"> - Chut 	

D'après les résultats retrouvés et les critères sur lesquels se fait le choix de l'équipement « pire cas » : l'équipement jugé comme étant « pire cas » est **l'isolateur de la compremeuse**.



Figure 10. L'isolateur de la comprimeuse

III.3. Procédure de nettoyage

Le nettoyage utilisé dans l'industrie pharmaceutique PROFAM SPA est un nettoyage manuel .il est important de bien former des opérateurs au procédé de nettoyage mis en place en utilisant des outils adaptés (lavette a nylon, éponge ...) Il se fait en quatre étapes :

- a) Pré-nettoyage.
- b) Application du détergent.
- c) Rinçage intermédiaire.
- d) Rinçage final.

a). Pré nettoyage

- La fermeture des ouvertures de filtres avec leurs caches respectifs et des sacs alimentaires pour protéger les filtres de l'eau.
- La fermeture des portes et l'éteignement de l'isolateur.
- Ouverture des robinets à boisseau sphérique présent au collecteur.
- Rinçage de la chambre principale à l'aide d'un pistolet pulvérisateur à l'eau purifiée chaude à 70 °C de 10 à 15min comme étant point de contact sur toutes les surfaces souillées.

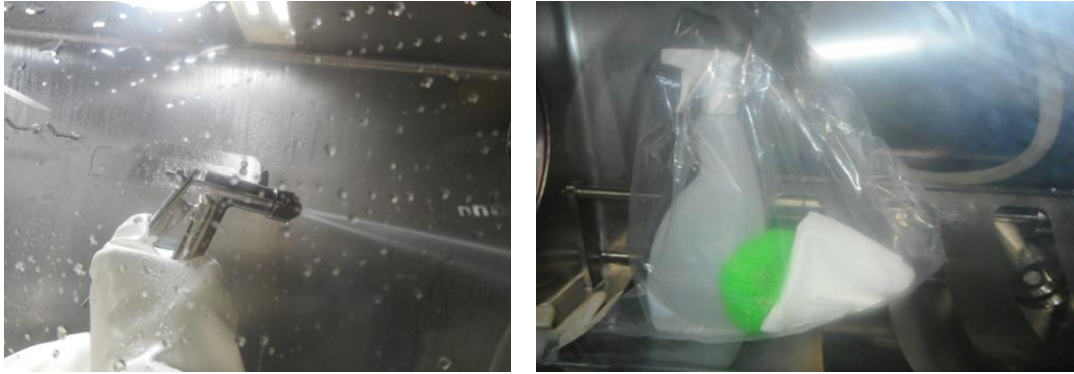
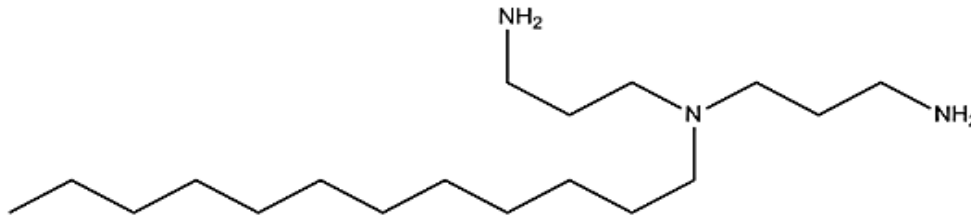


Figure 11. Nettoyage de l'isolateur de la compresseuse (Voir annexe 2.)

b). Application du détergent

Utilisation d'une solution détergente à 1 % : DACII + Eau purifiés à 70°C de 10 à 15 min comme temps de contact. (Voir fiche technique de détergent annexe 1).

▪ Structure du détergent



N-(3-aminopropyl)-*N*-dodecylpropane-1,3-diamine

Figure 12. La structure chimique du détergent DAC II

c). Rinçage intermédiaire

Un rinçage abondamment avec de l'eau purifiée chauffée à 70°C afin d'éliminer toute trace du détergent.

d). Rinçage final

- Ensuite on effectue un rinçage final avec de l'eau purifiée chauffée à 70°C, cette étape peut être répétée 2 fois pour tout l'équipement.
- Séchage à l'air comprimé, en ramenant toutes les gouttes vers les points de drainage, c'est la fin du nettoyage.

III.4. Détermination des critères d'acceptation

III.4.1. Critères d'acceptation en vue d'analyse physicochimique

Les critères d'acceptation de la conformité du nettoyage doivent être établis en amont de la validation de nettoyage.

- **Aspect visuel des équipements :** le contrôle visuel doit être réalisé de près à l'œil nu, et sous un bon éclairage.
- **Aspect visuel des prélèvements :**

- **Les écouvillons** : doivent garder leur aspect après prélèvement (0%).
- **Les eaux de rinçage** : doivent être exemptes de toutes traces visibles à l'œil nu.

Il faut vérifier l'absence de traces visibles à l'œil nu sur l'équipement nettoyé, ce dernier ne doit montrer aucun résidu sur les surfaces en contact avec les produits quel que soit la nature de ce résidu (coloration, souillure ou cristaux).

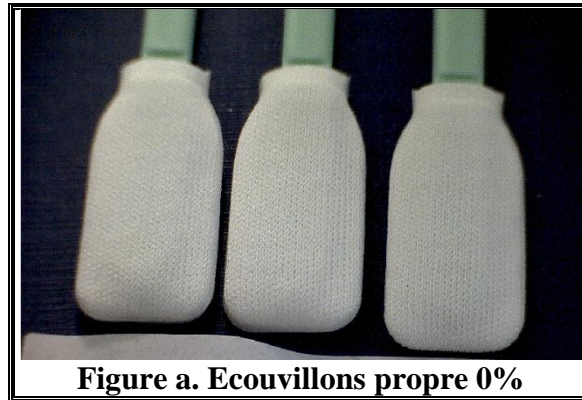


Figure a. Ecouvillons propre 0%

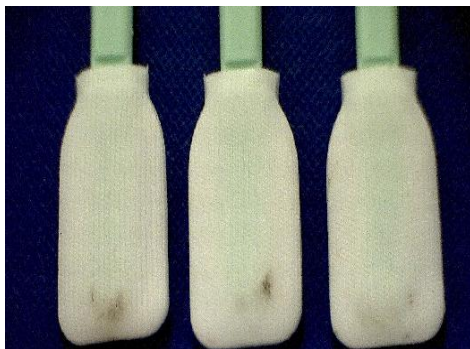


Figure b. Présence de traces peu visibles (25%)

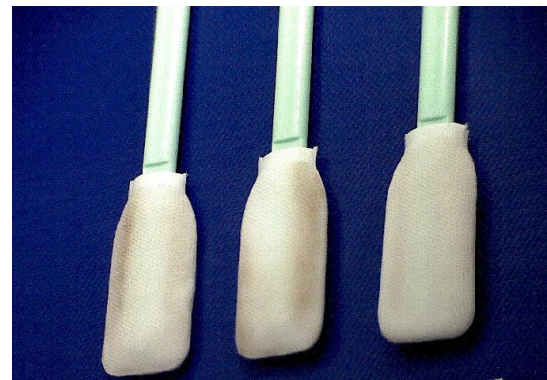


Figure c. Présence de traces visibles (50%)



Figure d. Présence de traces beaucoup visibles (75%)



Figure e. Présence de traces énormément visibles (100%)

Figure 13. Échelle de propreté des écouvillons

b). Critère des 10 ppm

Cette règle précise qu'on ne doit pas retrouver plus de 10 parties du produit précédant le nettoyage dans 1 million de partie de produit succédant le nettoyage. A titre d'exemple, on ne doit pas retrouver plus de 10 mg du produit précédent dans 1 kilogramme du produit succédant le nettoyage [20].

c). Critère du millième

D'après ce critère, on ne doit pas retrouver plus d'un millième de la dose thérapeutique minimale du produit précédant A (facteur de sécurité fixé à 1000) dans la dose journalière maximale du produit suivant B [20].

d). Accepted Residuel Level (ARL)

C'est une formule qui permet l'utilisation du critère 10 ppm et du millième à la fois, c'est la combinaison de ces deux derniers critères. Actuellement c'est la plus utilisée. [30]

➤ Prélèvements par écouvillonnage :

Les ARL sont exprimés en μg de A par écouvillon (ou par surface prélevée) :

$$ARL_{\mu\text{g}/\text{Ecouvillon}} = \frac{MAR \times Conversion(10^3) \times L_B \times A_S}{E_W} \quad (1)$$


Avec :

L_B (Kg) : plus petite taille de lot du produit suivant B.

A_S (m^2) : surface prélevée, elle est égale à 100 cm^2 .

E_W (m^2) : Surface maximale de contact (principe actif), calculé à partir des surfaces des équipements (voir annexe 3).

MAR (ppm): Maximum Allowable Residue for Therapeutic Product

 **Valeur accepter selon la norme est $35.9 \mu\text{g}$ / écouvillon**

➤ Prélèvements par eaux de rinçages :

Les ARL sont exprimés en mg de A par Kg de solvant de rinçage. (Ou par litres d'eau) :

$$ARL_{\text{mg}/\text{Kg de solvant}} = \frac{MAR \times L_B(\text{kg de B})}{\text{Volume du solvant}(\text{Kg})} \quad (2)$$

Avec :

L_B (Kg) : plus petite taille de lot du produit suivant B.

Volume du solvant (L) : Le volume total d'eaux pour rinçage final de l'ensemble des équipements étudiés. C'est le volume d'eau utilisé à la fin du nettoyage pour effectuer le prélèvement, ce volume doit être fixe.

 **Valeur accepté selon la norme est $1 \mu\text{g}/\text{ml}$**

Calcul du MAR_T minimal (Maximum Allowable Residuel for Therapeutic Product) exprimé en mg du produit précédent A par Kg du produit suivant B :

La valeur minimale du MAR correspond à la combinaison dont T_A du produit précédent est la plus faible de la gamme et T_B du produit suivant est la plus élevée.

$$MAR = \frac{T_A(mg) \times (Conversion) 10^6 \times F_S}{T_B(mg)} \quad (3)$$

Avec :

T_A : dose thérapeutique minimale du produit précédent A (mg).

T_B : dose thérapeutique journalière maximale du produit suivant B (mg).

F_S : facteur de sécurité.

Si le MAR_T est > 10 ppm, on utilise par défaut un MAR de 10 ppm dans le calcul des ARL.

III.4.2. Critères d'acceptation en vue d'analyse microbiologique

La pharmacopée européenne exige, pour le contrôle microbiologique, deux tests pour le dénombrement microbien (*DGAT et DMLT*) en plus de la recherche des germes spécifiés.

Tableau 5. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique [28].

Contrôle		Critère d'acceptation
Contrôle des eaux de rinçage	<i>DGAT + DMLT</i>	10^2 ufc /ml
	<i>E. coli</i>	Absence
	<i>P. aeruginosa</i>	Absence
Contrôle des surfaces par écouvillonnage	<i>DGAT + DMLT</i>	200 ufc / 100cm ²
	<i>E. Coli</i>	Absence
	<i>P. aeruginosa</i>	Absence

III .5. Plan de prélèvement

Un plan de prélèvements de l'équipement worst case « isolateur de la compremeuse » qui est en contact direct avec le produit worst case est établie pour vérifier la conformité du nettoyage.

Deux types de prélèvements seront effectués :

- ✦ **Prélèvement physicochimique des eaux de rinçage et écouvillonnage des équipements.**
- ✦ **Prélèvement microbiologique des eaux de rinçage et écouvillonnage des équipements.**

Tableau 6. Plan de prélèvement pour l'isolateur de la compresseuse.

Worst case	Equipment	Prélèvement Physicochimique		Prélèvement microbiologique	
		Eau de rinçage	Ecouvillonnage	Eau de rinçage	Ecouvillonnage
Molécule cytotoxique	Gant de la chambre centrale de l'isolateur	NA	√	NA	√
	Vanne de la chambre centrale à laquelle le catchpot est fixé	√	NA	√	NA
	Surface inférieure de la chambre centrale	NA	√	NA	√
	Trémie	NA	√	NA	√
	Feeder (distributeur)	NA	√	NA	√
	Tourelle	NA	√	NA	√
	Passerelle de séparation	NA	√	NA	√
	Dépoussiéreur	NA	√	NA	√
	Détecteur de métaux	NA	√	NA	√
	Poinçons	√	NA	√	NA

✚ NA : Non Applicable

III.5.1 L'outil de prélèvement

L'écouvillon permet d'accéder à la totalité de la surface à prélevé, son taux de récupération est important.



Figure14. Écouvillon physicochimique



Figure15. Écouvillon microbiologique

III.5.2. Techniques de prélèvement

Le prélèvement par écouvillonnage se fait sur une surface de 10×10 cm en effectuant des mouvements va et viens sur toute la surface (voir schéma).

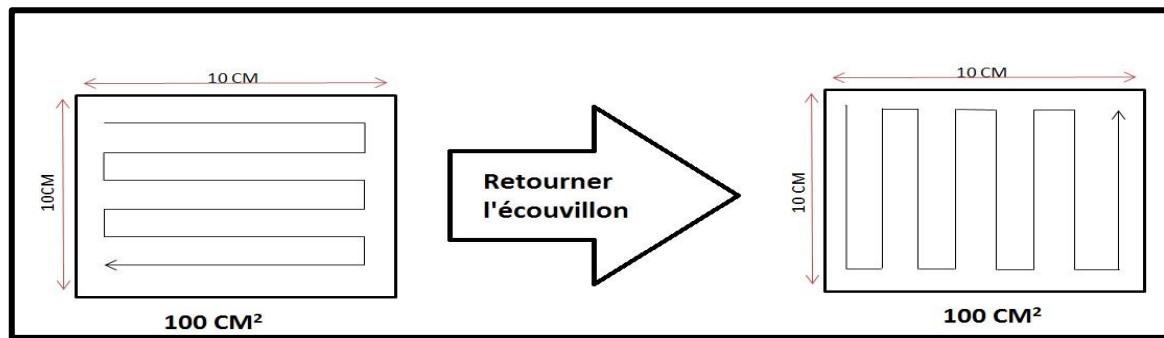


Figure 16. Technique de prélèvements

III.6. Les méthodes d'analyse physico chimique et microbiologique

III.6.1. Contrôle physicochimique

A. Contrôle visuel d'aspect des eaux de rinçage et des écouvillons

Une évaluation de l'aspect des eaux de rinçage et des écouvillons prélevées a été faite à l'œil nu, lorsqu'on trouvera les eaux de rinçage : limpide, sans odeur et sans couleur alors, elles obéissent aux critères d'acceptation, et concernant les écouvillons ne doivent présente aucune trace sur leurs surfaces.

B. Conductivité

On a mesuré l'activité électrolytique (la conductivité) des eaux de rinçage à l'aide d'un conductimètre étalonné et enregistré simultanément la température.

Par rapport aux spécifications de l'eau purifiée, la valeur de conductivité acceptable doit être inférieure à $4,3 \mu\text{S}$ à 20°C .

C. pH

La mesure de pH se fait après l'étalonnage du pH mètre, pour obtenir les valeurs de pH exactes on doit suivre les étapes suivantes :

- Sortir la sonde de la solution de conditionnement (KCl).
- Rincer la sonde avec du l'eau distillée essuyer délicatement.
- Prolonger la sonde dans les eaux de rinçage.
- Attendre la stabilité de valeur.
- Enregistrer la valeur de pH.
- Les valeurs de pH acceptées varient entre 5 et 7.



Figure 17. pH mètre et conductimètre

D. Substances oxydables

C'est une réaction colorimétrique qui a pour but de déterminer l'existence de trace de détergent dans les eaux de rinçage. Elle fait appel au protocole suivant :

- **Préparation des Solution de permanganate de potassium 0,01 M**

On dissout 1,6 g de permanganate de potassium dans de l'eau et on complète à 500,0 ml avec le même solvant.

On Chauffe la solution au bain-marie pendant 1 h, on laisse refroidir, puis on filtre sur un verre fritté.

- **Acide sulfurique dilué**

A 60 ml d'eau, on ajoute 5,5 ml d'acide sulfurique. On laisse refroidir, on complète à 100 ml avec le même solvant et on agite.

- **Méthode**

On Chauffe à ébullition pendant 5 min un mélange de 50 ml d'eau de rinçage, on ajoute 5 ml d'acide sulfurique dilué et de 0,1 ml de permanganate de potassium 0,01 M.

E. Recherche des traces de la molécule cytotoxique

Les quantités résiduelles du principe actif dans les équipements de production doivent être inférieures aux limites d'acceptation ARL

✚ ARL écouvillonnage = $35,6 \mu\text{g} / 100 \text{ cm}^2$

✚ ARL eaux de rinçage = $1 \mu\text{g/ml}$

« Toutes les méthodes analytiques utilisées pour la qualification, validation ou les opérations du nettoyage doivent être validées » [1].

E.1. Validation analytique de dosage de trace de la molécule cytotoxique

E.1.1 Méthodologie de test

Cette partie présente la documentation et la méthodologie mise en œuvre durant l'étude de validation des paramètres de conformité du système, spécificité, linéarité, fidélité (répétabilité, détermination du taux de recouvrement et rendement d'extraction par écouvillonnage), exactitude, limite de détection, limite de quantification dans le cadre de validation de nettoyage de la ligne forme sèche après fabrication du produit. La méthodologie est une technique HPLC, mise au point au niveau du Laboratoire de Contrôle Qualité de PROFAM industrie.

E.1.2. Description de la méthode**➤ Conditions chromatographiques :**

Colonne : L1 (Zozbax SB-C₁₈) 150mm × 4,6 mm, 5µm ou équivalente.

Débit : 1,0 ml/min.

Longueur d'onde : 215nm.

Volume d'injection : 20 µl.

Température de la colonne : 30°C.

Temps d'analyse : 15 min ou trois fois le temps de rétention du pic principal de la molécule cytotoxique.

➤ Préparation des solutions

Phase mobile : Acétonitrile / Eau purifiée (40 / 60) V/V. Filtrer à travers un filtre membrane PTFE 0,45µm ou équivalent, et dégazer.

Diluant : Acétonitrile / Eau purifiée (50/50) V/V.

Solvant de récupération : Ethanol absolu.

Solution standard 100 % : à 3,59 µg/ml correspondant à l'ARL des formes sèches.

Dans une fiole jaugée de 100,0 ml peser 35,9 mg (molécule cytotoxique) Working standard, ajouter 70 ml de diluant, mettre dans un bain à ultrason jusqu'à dissolution complète puis compléter au trait de jauge avec le diluant, agiter (solution A)

Dans une fiole de 100,0 ml, introduire 1ml de solution A et compléter au trait de jauge avec le diluant.

➤ **Matériels utilisés**

Figure 18. Chromatographie liquide à haute performance

E.1.3 Working standard

Tableau 7. Working standard

Working standard	Code	N° de lot
Molécule cytotoxique	LWS283	LT-11

E.1.4 Validation des résultats

La validation de la méthode de dosage de la molécule cytotoxique à l'état de traces est réalisée par chromatographie liquide à haute performance HPLC, les paramètres suivants sont à évaluer :

- ✓ Conformité
- ✓ Spécificité
- ✓ Linéarité
- ✓ Fidélité
- ✓ Exactitude
- ✓ Limites de détection LOD ;
- ✓ Limite de quantification LOQ

E.1.4.1 Conformité du système chromatographique (Suitability system)

Le test suitability system renseigne sur l'aptitude du système chromatographique à effectuer l'analyse suivant des critères préétablis. Elle est démontrée en injectant 6 fois la

solution standard 100% de la limite d'acceptation soit une solution à 3,59 µg/ml en molécule cytotoxique [30].

Les surfaces du pic de la molécule cytotoxique ont été enregistrées.

Les paramètres à évaluer sont :

- ✚ Ecart type relatif des aires du pic (Relatif Standard Déviation RSD).
- ✚ Nombre de plateaux théoriques (N).
- ✚ Facteur d'asymétrie (As).

E.1.4.2. Spécificité

La spécificité d'une méthode analytique est sa capacité d'évaluer sans équivoque l'analyte en présence des composants qui peuvent être présents [31].

La spécificité de la méthode analytique vis-à-vis de la molécule cytotoxique est démontrée en étudiant l'interférence des éléments ci-après :

- **Solvant de dilution** : Phase mobile.
- **Le support d'essuyage** : écouvillons.
- **Le support à prélever** : plaque en inox de même qualité que celui avec lequel sont fabriqués les équipements de la ligne liquide grand volume.

La comparaison est faite par rapport à une solution standard de la molécule cytotoxique à 100% de la limite d'acceptation.

L'interférence est réalisée en préparant et analysant les solutions suivantes :

- **Blanc solvant** : correspondant au diluent.
- **Blanc écouvillon** : dans un tube à vis, mettre 10 ml de diluent. Plonger 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération éthanol et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 1 heure
- **Blanc plaque** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer 1 ml du méthanol. Sécher à l'aide d'une plaque chauffante.

Écouvillonner la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant de récupération (éthanol) suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluent. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 1 heure.

Solution standard à 100% de la limite d'acceptation : Dans une fiole de 100 ml peser 3,59 µg/ml de la molécule cytotoxique. Dissoudre dans un volume suffisant de diluent et compléter au trait de jauge avec le même solvant. Diluer cette solution au 1/10ème dans le diluent pour avoir une solution d'une concentration de 3,59 µg/ml

Ces échantillons ont été analysés et observés pour la présence d'interférence au même temps de rétention que la molécule cytotoxique obtenu avec la solution standard 100%.



Figure 19. Agitation au vortex



Figure 20. Ultrason

E.1.4.3. Linéarité sur standard

La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité d'obtenir les résultats qui sont directement proportionnels à la concentration (ou à la quantité) de l'analyte à doser.

La linéarité de la réponse de la molécule cytotoxique est démontrée en préparant des solutions standard de cette dernière sur un intervalle de 20 % à 150 % de la limite d'acceptation. Ces solutions sont injectées 5 fois chacune et les surfaces des pics de la molécule cytotoxique sont enregistrées [33].

E.1.4.4. La répétabilité

La Répétabilité d'une méthode représente la qualité de l'accord entre des mesures répétées, effectuées sur un même échantillon dans des conditions constantes et déterminées.

L'étude de Répétabilité a été réalisée par un même opérateur, la préparation et l'analyse de la solution plaque 100% a été réalisé 6 fois.

Sur la base des résultats obtenus, l'écart type relatif, %RSD des taux de recouvrement de la molécule cytotoxique ont été déterminés.

En utilisant la droite de calibration : aire du pic des standards 50%, 100%, 150% de la molécule cytotoxique en fonction des concentrations, l'équation de la droite est de la forme :

$$Y = a x + b$$

$$\text{La concentration retrouvée } X = \frac{Y-b}{a}$$

Avec :

Y : l'aire du pic de la molécule cytotoxique

a : la pente

b : l'ordonnée a l'origine

Le calcul de taux de recouvrement a été effectué par rapport à la concentration de la solution standard de la molécule cytotoxique à 3.59 µg/ml par laquelle on a contaminé les plaques.

$$\text{Taux de recouvrement} = 100 \frac{\text{concentration retrouvé}}{\text{concentration déposé}}$$

E.1.4.5. Fidélité intermédiaire ; détermination du taux de recouvrement et d'extraction par écouvillonnage.

Principe

La contamination des plaques en inox par des quantités connues de molécule cytotoxique est suivie d'un prélèvement à l'aide d'écouvillons selon la méthode décrite dans la procédure de prélèvement physicochimique des eaux de rinçage et écouvillonnage. La détermination de la quantité de la molécule cytotoxique récupérée en analysant les prélèvements permettra de déterminer le taux de recouvrement.

➤ **Méthodes**

Préparation des solutions :

- Solvant d'extraction : diluant
- Solvant de récupération : Ethanol

➤ **Préparation de la solution standard**

▪ **Solution mère**

Dans une fiole de 50ml peser 17,97mg de la molécule cytotoxique WS, dissoudre dans un volume suffisant de diluant, mettre à l'ultrason pendant 5min, refroidir et compléter au trait de jauge avec le même solvant.

▪ **Solution stock**

Dans une fiole de 50ml peser 17,97mg de la molécule cytotoxique dissoudre dans un volume suffisant de diluant, mettre à l'ultrason pendant 5min, refroidir et compléter au trait de jauge avec le même solvant, Diluer 5ml de cette solution a 50ml avec le diluant. (C'est la solution de contamination de la plaque).

Solution standard 50% : diluer 0,5ml de la solution standard stock dans 100ml de diluent.

Solution standard 100% : diluer 1ml de la solution standard stock dans 100ml de diluent.

Solution standard 150% : diluer 1,5ml de la solution standard stock dans 100ml de diluent.

➤ **Contamination des écouvillons**

Blanc écouvillon : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de diluent. Plonger 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 1 heure.

Solution écouvillon à 50% d'ARL : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de la solution standard 50%, plonger les 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 1 heure.

Solution écouvillon à 100% d'ARL : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de la solution standard 100%, plonger les 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 1 heure.

Solution écouvillon à 150% d'ARL : dans un tube à vis, mettre 10 ml de la solution standard 150%, plonger les 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 1 heure

➤ **Contamination des plaques**

Blanc plaque

Sur une plaque en inox de 10cm x 10cm. Déposer 1 ml de méthanol. Sécher à l'aide d'une plaque chauffante.

Écouvillonner la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 1 heure.

Solution plaque 50% : sur une plaque en inox de 10cm×10cm, déposer 0,5ml de la solution de contamination, prélever la surface de la plaque à l'aide de 3 écouvillons (2 humectés et un troisième sec), récupérer les 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10ml de diluant. Agiter au vortex pendant 1minute, mettre à l'ultrason pendant 15minutes et laisser pendant 1heure à l'abri de la lumière.

Solution plaque 100% : sur une plaque en inox de 10cm×10cm, déposer 1ml de la solution de contamination, prélever la surface de la plaque à l'aide de 3 écouvillons (2 humectés et un troisième sec), récupérer les 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10ml de diluant.

Agiter au vortex pendant 1minute, mettre à l'ultrason pendant 15minutes et laisser pendant 1heure à l'abri de la lumière.

Solution plaque 150 % : sur une plaque en inox de 10cm×10cm, déposer 1,5ml de la solution de contamination, prélever la surface de la plaque à l'aide de 3 écouvillons (2 humectés et un troisième sec), récupérer les 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10ml de diluant. Agiter au vortex pendant 1minute, mettre à l'ultrason pendant 15minutes et laisser pendant 1heure à l'abri de la lumière.

Remarque : la préparation et l'analyse des solutions plaque 50% 100% 150% a été réalisé trois fois.

- Rendement d'extraction : Correspond à la quantité de la molécule cytotoxique reléguée par l'écouvillon dans le diluant. Il est calculé pour chaque niveau de concentration à partir des aires de pic obtenues à partir des chromatogrammes des solutions écouvillons.

Calcul de rendement d'extraction :

$$\text{Rendement d'extraction} = 100 \frac{\text{Aire de solution écouvillon}}{\text{Aire de solution standard}}$$

- Rendement de recouvrement : Correspond à la quantité de la molécule cytotoxique récupérée par les trois écouvillons. Il est calculé pour chaque niveau de concentration à partir des aires de pic de la molécule cytotoxique obtenues à partir des chromatogrammes des solutions standards et solutions plaques.

Calcul de le rendement de recouvrement :

Correspond à la quantité de la molécule cytotoxique récupérer sur les trois écouvillons .il est calculé pour chaque niveau de concentration à partir des aires de pic de molécule cytotoxique obtenus :

$$\text{Rendement de recouvrement} = 100 \frac{\text{concentration solution plaque retrouvée}}{\text{concentration solution standard déposée}}$$

Les concentrations de la molécule cytotoxique ont été calculées en utilisant la droite de calibration : aire du pic des standards 50% ,100% ,150% de la molécule cytotoxique en fonction des concentrations, l'équation de la droite est de la forme : $Y = a x + b$

$$\text{La concentration retrouvée } X = \frac{Y-b}{a}$$

Avec :

Y : l'aire du pic de la molécule cytotoxique

a : la pente

b : l'ordonnée a l'origine

E.1.4 .6. L'exactitude

L'exactitude d'une procédure analytique est la proximité des résultats d'essai obtenus par cette procédure avec la valeur réelle. L'exactitude d'une procédure analytique doit être établie sur toute sa plage[].

la définition de l'exactitude selon ICH Q2 correspond uniquement à l'impartialité. Dans le Vocabulaire international de la métrologie (VIM) et les documents de l'Organisation internationale de normalisation (ISO), le terme "précision" a un sens différent. Dans l'ISO, l'exactitude combine les concepts d'impartialité (appelée "justesse") et de précision [34].

E.1.4.7. Limite de détection et limite de quantification

Limite of détection (LOD) : la LOD, c'est la limite analytique pour laquelle une méthode d'analyse est capable de détecter la présence d'une molécule donnée.

Limite of quantification (LOQ) : la LOQ, c'est la limite analytique pour laquelle une méthode d'analyse est capable de mesurer la quantité d'une molécule donnée.

La LOQ et la LOD sont déterminer à partir de la gamme d'étalonnage du paramètre linéarité, on trace la droite de régression ; hauteur du pic de la molécule cytotoxique en fonction de la concentration (exprimé en $\mu\text{g/ml}$).

On détermine la droite de régression de la Hauteur en fonction de la concentration :

$$Y = ax + b$$

Avec :

Y : Hauteur de pic de la molécule cytotoxique

X : concentration de la molécule cytotoxique en $\mu\text{g/ml}$

On calcule :

La pente a l'ordonné à l'origine b et l'erreur de l'ordonné à l'origine σ_b .

LOD (limite de détection) et LOQ (limite de quantification).

$$\text{LOD} = \frac{3,3\sigma_b}{a} \quad \text{LOQ} = \frac{10\sigma_b}{2a}$$

Si les critères d'acceptation sont satisfaits pour tous les paramètres étudiés, la méthode sera dite validée pour le dosage de la molécule cytotoxique à l'état de traces.

III.6.2. Contrôle microbiologique

La méthode utilisée dans l'industrie pharmaceutique PROFAM SPA c'est celle de la filtration sur membrane qui est une méthode recommandée en première intention par la pharmacopée européenne.

Le principe de cette méthode est de concentrer sur les microorganismes potentiellement présents dans les eaux de rinçages sur une membrane qui sera mise en contact avec un milieu de culture, on distingue deux méthodes [26].

III.6.2.1. Méthodes par récupération des eaux de rinçage :

On cherche les microorganismes *E. Coli* et *Pseudomonas Aeruginosa* ; et le dénombrement microbien de *DGAT* + *DMLT*.

C'est pour cela on prélève 100ml pour chaque analyse. et on utilise des filtres de :

0,45 μm pour : (*DGAT*, *DMLT*, *E. COLI*).

0,2 µm pour : *Pseudomonas Aeruginosa*.

Après filtration on récupère le filtre et on le dépose sur une boîte pétri gélosée :

- Incuber a 30-35 °C pendant 5 jours pour les *DGAT* et 3 jours pour la recherche de *P. aeruginosa*.
- Incuber a 20-25 °C pendant 5 jours pour les *DMLT* et a 42-44 °C pendant 48h pour la recherche de *E. Coli*.

III.6.2.2. Méthode par Ecouvillonnage

Pour cela on utilise 3 écouvillons le 1^{er} écouvillon pour *DGAT* le 2^{ème} écouvillon pour *DMLT*, Le 3^{ème} pour la recherche de *P. aeruginosa* et *E. COLI*, On retire l'écouvillon de son tube et on prélève la totalité de la surface délimiter par le gabarit (100 cm²) en utilisant des mouvements va et vient.

❖ Recherche des germes totaux

Une fois que le prélèvement a été effectuer, on rajoute 10ml de **solution neutralisante témoin** pour le 1^{er} et le 2^{ème} écouvillons, après agitation on les filtre séparément sur une membrane de nitrate de cellulose, et les déposer sur boîte de gélose R₂A pour *DGAT* et gélose Sabouraud Chloramphénicol pour les *DMLT*.

La 1^{ère} seras incuber a 30-35°C pendant 5 jours, et la 2^{ème} seras incuber a 20-25 °C pendant 5 jours. [27]

❖ Recherche d'*E. Coli* et *Pseudomonas aeruginosa* :

Rajouter 2ml de solution neutralisante tampon dans le 3^{ème} écouvillon, ensuite on prend 1ml de ce dernier et le revivifie dans 3ml de TSB et l'incuber pendant 24h à 30-35°C

Ensuite ensemencer la surface d'une boîte de gélose Céramide et l'incuber à 30-35 °C pendant 2 jours, et une boîte de gélose Mac Conkey et l'incuber à 42-44 °C pendant 48 h. [26]



Figure 21. Matériels, milieux et équipement nécessaire pour le contrôle microbiologique.

III.7. Validation de la reproductibilité de procédé de nettoyage

Pour valider la reproductibilité du procédé de nettoyage, trois nettoyages majeurs seront effectués après la fabrication de trois lots successifs du produit worst case de la ligne «Oncologie» en respectant les mêmes conditions dans les trois jours de validation (la même procédure de nettoyage, le même worst case et le même plan de prélèvement).

The background features a decorative graphic consisting of three blue circles of varying sizes, each composed of concentric rings of different shades of blue. Two thin, light blue lines intersect at the top left, forming a large 'V' shape that frames the circles. The text is positioned in the center-left area of the page.

Chapitre 03 : **Résultats et** **discussions**

I. Détermination du produit pire cas « worst-case »

Comme on a déjà parlé précédemment dans la partie théorique que le choix du worst case est basé sur des critères qui sont (le plus toxique, difficile à nettoyer, et insoluble dans l'eau), mais dans l'industrie pharmaceutique PROFAM Spa, tous les produits sont considérés comme des worst case en raison de : Leurs **degrés de toxicité (c'est des anti cancéreux)**.

- ✚ Donc le produit worst case c'est : la molécule cytotoxique, les médicaments sont en cours de développement (pour des raisons de confidentialités on ne cite pas le nom).

II. Détermination de la limite d'acceptation

- Le calcul de l'ARL

On doit d'abord calculer en premier lieu le MAR, à partir de la relation (3)

Paramètres	Valeur
T_A	1
T_B	1
F_s	10^3

$$\text{MAR} = \frac{1 \times 10^6 \times 10^{-3}}{1} = 10^3$$

- a). **Ecouvillonnage** : En utilisant la formule (1)

Paramètres	Valeur
L_B	5kg
A_s	0,01m ²
MAR	10^3
E_w	13,91 m ²

$$\text{ARL} = \frac{10 \times 10^3 \times 5 \times 0,01}{13,91} = 35,9 \mu\text{g} / \text{écouvillon}$$

- b). **Eau de rinçage** :

Paramètres	Valeur
L_B	5Kg
MAR	10^3
Masse de solvant	50 L

$$\text{ARL} = \frac{10 \times 5}{50} = 1 \mu\text{g} / \text{ml}$$

III. Le plan de prélèvement pour l'équipement pire cas

Comme on a déjà cité précédemment que le prélèvement à partir de l'équipement pire cas « l'isolateur de la compresseuse » s'effectue à partir de différentes zones, on a choisi de citer quelques-uns.



Figure 22. Les différents points de prélèvements

IV. Résultats des méthodes d'analyse physicochimique et microbiologique

IV.1. Résultat d'analyse physicochimique

❖ **Aspect visuel des prélèvements**

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant pour les 3 jours de validation, pour les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage.

Tableau 8. Résultats de contrôle visuel de l'aspect des prélèvements ;

Point de Prélèvement	Aspect des prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage						Norme
	Nettoyage 01		Nettoyage 02		Nettoyage 03		
	Eaux de rinçage	Ecouvillo-nage	Eaux de Rinçage	Ecouvillo-nage	Eaux de Rinçage	Ecouvillo-nage	
Gant de la chambre centrale de l'isolateur	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	Absence de traces visible
Vanne de la chambre centrale à laquelle le catchpot est fixé	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	
Surface inférieure de la chambre centrale	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	
Trémie	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	
Feeder (distributeur)	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	
Tourelle	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	
Passerelle de séparation	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	
Dépoussiéreur	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	
Détecteur de métaux	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	
Poinçons	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA	

D'après les résultats obtenus dans le tableau, l'équipement ne contient aucune trace visible à l'œil nu, donc l'équipement jugé propre.

❖ Conductivité

La conductivité est établie en mesurant celles des eaux de rinçage et la comparer avec celle de l'eau purifiée utilisée dans le nettoyage de l'atelier de la compression. Pour une conductivité conforme la valeur doit être inférieure $\leq 4,3 \mu\text{s}$.

Tableau 09. Résultats de contrôle de la conductivité des eaux de rinçage.

Point de Prélèvement	Conductivité des eaux de rinçage (μs)			
	Nettoyage 01	Nettoyage 02	Nettoyage 03	Norme
Vanne de la chambre centrale à laquelle le catchpot est fixé	3,8	4,0	3,6	$\leq 4,3$ à 20°C
Poinçons	4,2	4,0	3,5	

Les résultats de la conductivité des eaux de rinçage effectués en triplicata sont représentés dans le tableau 9, les valeurs sont comprises entre 3,8 et 4,2 et sont donc conformes à la norme.

❖ pH

La mesure de pH est réalisée à une température de $20^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ sur la solution bien homogénéisée. Les résultats sont représentés dans le tableau 10.

Tableau 10. Résultats de contrôle du pH des eaux de rinçage.

Point de prélèvement	pH des eaux de rinçage			
	Nettoyage 01	Nettoyage 02	Nettoyage 03	Norme
Vanne de la chambre centrale à laquelle le catchpot est fixé	6,8	5,7	6,8	5,0 à 7,0
Poinçons	6,5	6,5	6,7	

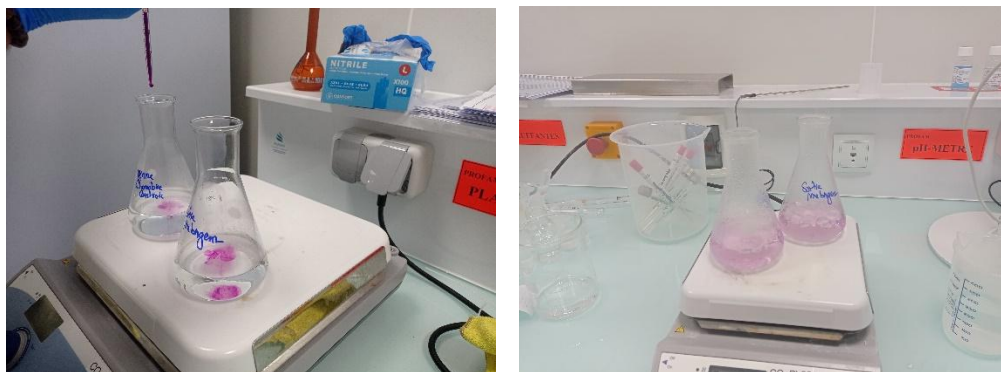
D'après les données du tableau 10, les mesures des trois nettoyages varient entre 5,7 et 6,8, elles sont bien dans l'intervalle de la norme qui varie de 5,0 et 7,0. Donc la mesure de pH des eaux de rinçage est conforme.

❖ Substances oxydables

La réaction colorimétrique a pour but de chercher les traces du détergent dans les eaux de rinçage, si la solution reste légèrement rose donc absence de traces du détergent, dans le cas contraire les traces du détergent sont toujours présentes dans les eaux de rinçage.

Tableau 11. Résultats de contrôle des substances oxydable des eaux de rinçage.

Point de prélèvement	Substance oxydable			Norme
	Nettoyage 01	Nettoyage 02	Nettoyage 03	
Vanne de la chambre centrale à laquelle le catchpot est fixé	Conforme	Conforme	Conforme	La solution reste légèrement rose
Poinçons	Conforme	Conforme	Conforme	

**Figure 23.** Résultat des solutions oxydable

D'après les résultats retrouvés dans le tableau 11, les eaux de rinçage reste légèrement rose donc répond à la norme de la solution colorimétrique.

❖ Résultat de recherche de traces de la molécule cytotoxique

a). Dans les écouvillons

La recherche de traces de PA dans les écouvillons se fait selon 3 jours, la valeur du PA qu'on peut trouver doit être $\leq 35,9 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$.

Tableau 12. Résultats de recherche de traces du PA par écouvillonnage.

Point de prélèvement	Recherche de traces par écouvillonnage			Norme
	Nettoyage 01	Nettoyage 02	Nettoyage 03	
Gant de la chambre centrale de l'isolateur	Non Détectée	Non Détectée	0,35	$\leq 35,9 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$
Surface inférieure de la chambre centrale	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	
Trémie	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	
Feeder (distributeur)	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	
Tourelle	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	
Passerelle de séparation	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	
Dépoussiéreur	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	
Détecteur de métaux	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	

D'après les résultats retrouvés dans le tableau 12, on conclue que les résultats sont conformes à la norme.

b). Dans les eaux de rinçage

Tableau 13. Résultats de recherche de traces du PA dans les eaux de rinçage

Point de Prélèvement	Recherche de traces dans les eaux de rinçage			Norme
	Nettoyage 01	Nettoyage 02	Nettoyage 03	
Vanne de la chambre centrale à laquelle le catchpot est fixé	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	$\leq 1 \mu\text{g/ml}$
Poinçons	Non Détectée	Non Détectée	Non Détectée	

D'après les résultats retrouvés dans le tableau 13, on conclue que les résultats sont conformes à la norme.

❖ Résultat de la validation de la méthode analytique

- **La conformité du système chromatographique :** les valeurs obtenues ont été reprises dans les tableaux ci-après :

Tableau 16. % RSD du pic de la molécule cytotoxique

Injections N	Aire du pic de la molécule
1	149114
2	149063
3	149177
4	149051
5	148734
Moyenne	149028
Ecart type	172
%RSD	0,1

Tableau 17. Nombre de plateaux théoriques et le facteur de symétrie

² D1F Paramètres	Résultats	Norme
Nombre de plateaux théorique	4943	≥ 1500
As	1,05	0,8-1,5

Les résultats obtenus répondent aux critères de conformité, le système est apte à effectuer les analyses.

➤ Spécificité

Les chromatogrammes obtenus à partir des solutions analysées dans le cadre de l'étude de l'interférence entre la molécule cytotoxique et : le blanc solvant, le blanc écouvillon, le blanc plaque et la solution standard 35,9 µg/ml sont présentés dans l'annexe (3).

Observation

Il n'existe pas d'interférence au temps de rétention de l'analyte, donc la méthode est dite spécifique pour le dosage de la molécule cytotoxique.

➤ La linéarité

Les données brutes du paramètre linéarité sont présentées dans le tableau.

Le coefficient de corrélation << R >> doit être supérieur ou égale à 0,99.

Tableau 18. Données de la linéarité de la méthode de dosage de la molécule

Niveaux de linéarité en (%)	Niveaux de linéarité expérimentale %	Concentration de la molécule en µg/ml	Aire du pic de la molécule (moyenne pour chaque concentration)
20%	19,9%	0,358	30119
50%	49,9%	0,895	74708
75%	74,8%	1,343	112341
100%	99,7%	1,790	149023
150%	149,6%	2,685	225054

La droite de régression : Aire du pic en fonction de la concentration (ou en %) de la molécule cytotoxique a été tracée. La pente a, l'ordonnée à l'origine b de la droite ainsi que le coefficient de corrélation sont calculés et l'équation de la droite de régression est établie.

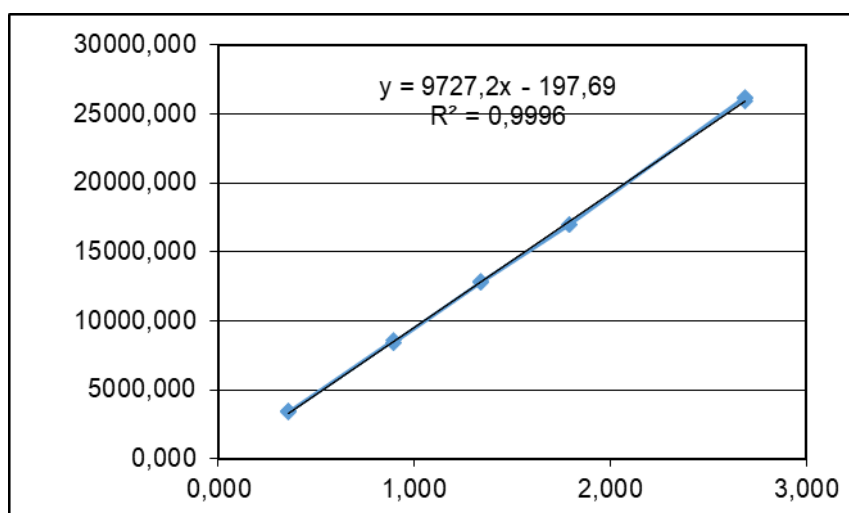


Figure 24. Linéarité du dosage de traces de la molécule cytotoxique.

La droite de régression $Y = 9727,2 x - 197,69$

Avec :

Y : aire du pic de la molécule cytotoxique

X : concentration de la molécule cytotoxique en $\mu\text{g/ml}$

R : Coefficient de corrélation

R = 1

La méthode présente une bonne corrélation ($R^2 = 1$) entre les aires du pic de la molécule et les concentrations dans l'intervalle de 0,358 $\mu\text{g/ml}$ à 2,685 $\mu\text{g/ml}$. (Voir annexe 4)

➤ Répétabilité

Le but de cette méthode est de trouver le coefficient de variation $\leq 5\%$,

Tableau 19. Répétabilité de la méthode de dosages de traces de la molécule

Solution plaque 100%	Concentration de la molécule déposée en μg	Concentration de la molécule retrouvée en μg	Taux de recouvrement en %
1	3,594	3,395	94,5
2	3,594	3,401	94,6
3	3,594	3,445	95,9
4	3,594	3,388	94,3
5	3,594	3,402	94,7
6	3,594	3,417	95,1
		Moyenne	94,8
		Ecart type	0,6
		RSD % ($\leq 5\%$)	0,6

Le coefficient de variation des six (06) répétitions de la préparation et de l'analyse de la solution plaque 100% est de 0,6 %. La norme retenue est de $\leq 5\%$, la méthode de dosage des traces de la molécule est jugée reproductible. (Voir annexe 5)

➤ Fidélité

Tableau 20. Résultat des rendements de recouvrement retrouvé par les 3 essais de contamination de plaque, sur 3 jours différents.

Niveaux de concentration			Quantité de Pa déposée en $\mu\text{g/ml}$	Quantité de Pa retrouvé en $\mu\text{g/ml}$	Rendement de recouvrement
Jour1	50	Essaie1	1,790	1,574	87,9
		Essaie 2	1,790	1,580	88,3
		Essaie3	1,790	1,591	88,9
		Moyenne	1,790	1,582	88,4
	100	Essaie 1	3,580	3,211	89,7
		Essaie2	3,580	3,216	89,8
		Essaie3	3,58	3,199	89,4

	150	Moyenne	3,58	3,209	89,6
		Essaie 1	5,37	4,791	89,2
		Essaie2	5,37	4,835	90,0
		Essaie3	5,37	4,813	89,6
		Moyenne	5,37	4,813	89,6
Jour 2	50	Essaie1	1,797	1,602	89,2
		Essaie2	1,797	1,616	89,9
		Essaie3	1,797	1,605	89,3
		Moyenne	1,797	1,608	89,5
	100	Essaie 1	3,594	3,395	94,5
		Essaie2	3,594	3,401	94,6
		Essaie3	3,594	3,445	95,9
		Moyenne	3,594	3,414	95,0
	150	Essaie1	5,391	5,208	96,6
		Essaie2	5,391	5,130	95,2
		Essaie3	5,391	5,233	87,1
		Moyenne	5,391	5,180	96,3
Jour 3	50	Essaie1	1,797	1,617	90,0
		Essaie2	1,797	1,609	89,5
		Essaie.	1,797	1,622	90,3
		Moyenne	1,797	1,616	89,9
	100	Essaie1	3,594	3,427	95,4
		Essaie2	3,594	3,432	95,5
		Essaie3	3,594	3,414	95,0
		Moyenne	3,594	3,424	95,3
	150	Essaie1	5,391	5,206	96,6
		Essaie2	5,391	5,257	97,5
		Essaie3	5,391	5,191	96,3
		Moyenne	5,391	5,218	86,8

Tableau 21. Calcul des taux de recouvrement par écouvillonnage.

Concentration en %	Taux de recouvrement en %	
	Rendement obtenus	
50%	Jour1	88,4
	Jour2	89,5
	Jour3	89,9
	Moyenne des 3 jours	89,3
	Ecart type	0,8
	%RSD	0,9
100%	Jour1	99,6
	Jour2	95,0

	Jour3	95,3
	Moyenne des 3 jours	93,3
	Ecart type	3,2
	%RSD	3,4
150%	Jour1	89,6
	Jour2	96,3
	Jour3	96,8
	Moyenne des 3 jours	94,2
	Ecart type	4,0
	%RSD	4,3
Taux de recouvrement		92,3

Taux d'extraction : Le coefficient de variation (RSD) pour chaque concentration est $< 10\%$, donc le taux de recouvrement correspond à la moyenne, il est égal à **92,3 % Taux de recouvrement** : Le coefficient de variation (RSD) pour la concentration de 50% est inférieur à 10% donc le taux de recouvrement correspond à la moyenne.

Donc la méthode est dite **fidèle**. (Voir annexe 6.7.8)

➤ **Limite de détection et de quantification**

• **Détermination de LOD/LOQ**

Tracer la droite d'étalonnage Hauteur = fonction de concentration, déterminer sa pente a et son ordonnée à l'origine b .

La limite de détection est calculée à partir de la relation : $LOD = 3,3 \sigma_b / a$

La limite de quantification est calculée à partir de la relation : $LOQ = 10 \sigma_b / a$

Avec :

σ_b : erreur sur l'ordonnée à l'origine

Tableau 22. Linéarité du dosage de traces de la molécule cytotoxique.

Niveaux de linéarité en (%)	Niveaux de linéarité expérimentale %	Concentration de la molécule en $\mu\text{g/ml}$	Aire du pic de la molécule (moyenne pour chaque concentration)
20%	19,9%	0,358	30119
50%	49,9%	0,895	74708
75%	74,8%	1,343	112341
100%	99,7%	1,790	149023
150%	149,6%	2,685	225054

La droite de régression : Aire du pic en fonction de la concentration (ou en %) de la molécule cytotoxique a été tracée. La pente a , l'ordonnée à l'origine b de la droite ainsi que le

coefficient de corrélation sont calculés et l'équation de la droite de régression est établie. **La droite de régression : Aires des pics = Fonction des concentrations**

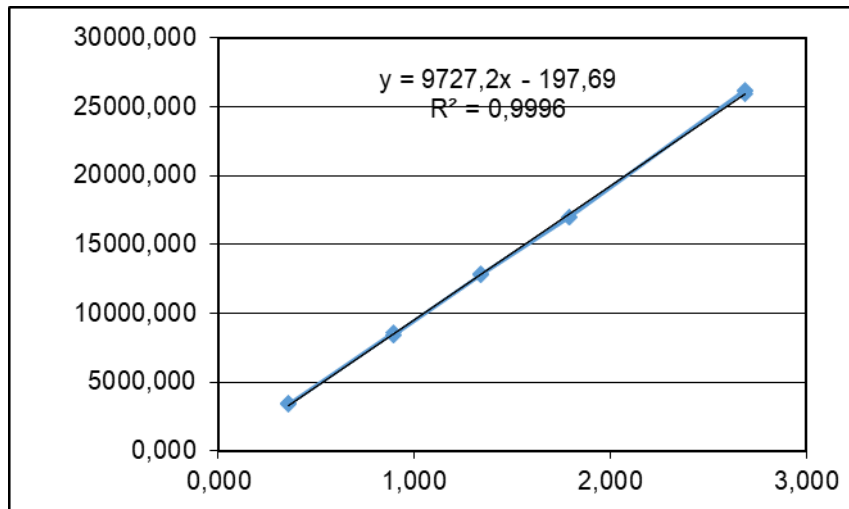


Figure 25. Concentration en molécule cytotoxique pour la limite de détection et de quantification

$$Y = 9727,2x - 197,69$$

Où :

La pente $A = 9727,2$

L'ordonnée à l'origine $B = -197,69$

L'erreur $\sigma_B = 86$

$R = 1$

$$LOD = (3,3 \times \sigma_B) / a = (3,3 \times 86) / 9727 = 0,029 \mu\text{g/ml}$$

$$LOQ = (10 \times \sigma_B) / a = (10 \times 86) / 9727 = 0,089 \mu\text{g/ml}$$

La limite de quantification LOQ (0,089 $\mu\text{g/ml}$) est inférieure à la limite d'acceptation ARL (3,59 $\mu\text{g/ml}$) de la validation du nettoyage de la ligne de fabrication de la forme sèche. (Voir annexe 9).

IV.2. Résultats d'analyse microbiologique

Après 3 jours de nettoyage, les résultats retrouvés pour la recherche des charges bactérienne dans les eaux de rinçage et les écouvillons sont décrite ans le tableau suivant.

Tableau 14. Résultats microbiologiques des écouvillons.

Point de prélèvement	Paramètre	Résultats de prélèvement (Ecouvillonnage)			Norme
		Nettoyage 01	Nettoyage 02	Nettoyage 03	
Gant de la chambre centrale de l'isolateur	DGAT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	DMLT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Surface inférieure de la chambre centrale	DGAT	04	18	00	200ufc/100cm ²
	DMLT	01	05	00	200ufc/100cm ²
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Trémie	DGAT	06	22	04	200ufc/100cm ²
	DMLT	00	02	00	200ufc/100cm ²
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Feeder (distributeur)	DGAT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	DMLT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Tourelle	DGAT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	DMLT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Passerelle de séparation	DGAT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	DMLT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Dépoussiéreur	DGAT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	DMLT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Détecteur de métaux	DGAT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	DMLT	NA	NA	NA	200ufc/100cm ²
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence

Tableau 15. Résultats microbiologiques des eaux de rinçage.

Point de prélèvement	Paramètre	Résultats de prélèvement (Eau de rinçage)			Norme
		Nettoyage 01	Nettoyage 02	Nettoyage 03	
Vanne de la chambre centrale à laquelle le catchpot est fixé	<i>DGAT</i>	22	08	432	10 ⁴ UFC/100ml
	<i>DMLT</i>	02	00	00	10 ⁴ UFC/100ml
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Poinçons	<i>DGAT</i>	20	04	60	10 ⁴ UFC/100ml
	<i>DMLT</i>	00	00	00	10 ⁴ UFC/100ml
	<i>E.Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
	<i>P.Aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence	Absence

Le contrôle microbiologique des eaux de rinçage et d'écouvillonnages des trois journées de validation de nettoyage est conforme aux spécifications déjà cité

The page features a decorative graphic consisting of three overlapping circles in shades of blue, arranged in a vertical line. Two thin, light blue lines intersect at a point between the top and middle circles, forming a V-shape that points downwards. The text 'Conclusion générale' is positioned to the left of the middle circle.

Conclusion générale

La maîtrise de la contamination en industrie pharmaceutique, en particulier de la contamination croisée, a pris une importance croissante au cours des dernières années, notamment lors de la fabrication de produits hautement actifs.

Les moyens mis en œuvre peuvent être préventifs et concerner la conception des locaux, la maîtrise du milieu, la rédaction et l'application stricte de procédures contribuant à limiter les contaminations, ou curatifs : il s'agit des opérations de nettoyage. Ces opérations doivent aussi faire l'objet de procédures et tenir compte des sources de contamination et des zones critiques des équipements et surfaces concernés. La démarche de validation de nettoyage doit être documentée, et chaque choix justifié.

Les limites doivent être établies préalablement, et indépendamment des paramètres analytiques. Elles devront pouvoir être atteintes par des méthodes analytiques validées, et le résidu contaminant doit pouvoir être récupéré de façon adéquate et reproductible.

La validation des procédés de nettoyage permet à l'entreprise d'être en conformité avec les exigences réglementaires nationales et internationales. Elle garantit l'efficacité et la fiabilité du nettoyage qui est un moyen efficace pour combattre la contamination croisée. Elle est la seule façon de démontrer que le nettoyage permet d'obtenir un système ne comportant pas de contamination résiduelle supérieure à une limite fixée et ceci de façon reproductible.

Dans ce travail, nous avons validé le nettoyage des équipements de fabrication de la forme sèche « oncologie » selon la stratégie des pires cas (détermination de produit de worst-case, calculer les critères d'acceptation). Cette stratégie est devenue une exigence réglementaire du fait qu'elle a été intégrée dans les récentes révisions des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF).

The page features a decorative graphic consisting of three overlapping blue circles of varying sizes, arranged in a triangular pattern. Two thin blue lines intersect at a point, forming a V-shape that frames the circles. The text 'Références bibliographiques' is centered on the page.

Références bibliographiques

- [1] Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication. Agence Nationale de Sécurité de Sécurité des Médicaments et des produits de santé. Janvier 2021.
- [2] J. Bailly. Stratégie de validation de nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique. Thèse de Docteur en Pharmacie. Université Claude Bernard -Lyon I. France.2004.
- [3] H. Mourn. Validation de nettoyage des équipements de production des formes pâteuses. Thèse de doctorat en pharmacie. Université MOHAMMED V. RABAT. 2010.
- [4] M.I. Dandjinou. Validation de nettoyage : enjeux et mise en place Thèse de docteur en pharmacie. Université de Lille 2. France. 2011/2012.
- [5] C.H. Ledoux General Principle and Practices US Department of Health and Human services, Food and Drug Administration, 2011.
- [6] A. Baricault. Validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : cas pratique d'un projet de changement d'agent de nettoyage. Thèse de docteur en pharmacie U.F.R des sciences pharmaceutiques – Université de Bordeaux. France. 2014.
- [7]L. Laftine. validation de nettoyage des équipements de production dans l'industrie pharmaceutique. Université Mohammed V RABAT. 2010.
- [8] M. Mamou. validation de nettoyage en industrie pharmaceutique : nouvelles recommandations et application aux équipements de fabrication dans un site multi produit Université Mouloud Mammeri. TiziOuzou,2018.
- [9] C. Trehel . Gestion du risque de contamination croisée en industrie pharmaceutique. U.F.R des sciences pharmaceutiques . Thèse de docteur en pharmacie . Université de Bordeaux ; France. 2015.
- [10] L. Liagre. Validation du nettoyage des équipements de production pharmaceutique : Recommandations de la nouvelle annexe 15 des BPF. Thèse de docteur en pharmacie. Université de Lille 2. 2018.
- [11] H. Bouherrou . Validation de nettoyage des équipements de production pharmaceutique par la méthode des pires cas. Application à la ligne de fabrication des formes pâteuses de BIOPHARM INDUSTRIE Mémoire de Master en Chimie, option chimie du médicament. Université des Sciences Techniques Houari Boumediene. 2010.
- [12] Norme NF EN ISO 862 : Agents de surface – Vocabulaire. Octobre 1995.

- [13] F. Laban . Cauwet F, Champault V. Validation des procédés de nettoyage, rapport de la commission SFSTP. STP Pharma Pratique. 1996. 6 (1) 5-40
- [14] Norme ISO. 14698-1 : 2003.
- [15]Y. Elzer. Nettoyage et désinfection des équipements de conditionnement: enjeux, problématiques et solutions d'amélioration continue sur un site de fabrication de produits pharmaceutiques et cosmétiques. Thèse de docteur en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier. France. 2018.
- [16] Historique d'une alerte résolue : Furosémide Teva 40mg, comprimé sécable, Juin 2013 [réf. du 28 Octobre 2014], Disponible sur [http://ansm.sante.fr/Dossiers/Furosemide- Teva-40-mgcomprime-secable](http://ansm.sante.fr/Dossiers/Furosemide-Teva-40-mgcomprime-secable).
- [17] Guide to inspections validation of clenning processes FDA , juillet 1993.
- [18] J.Y.Lee .FDA Compliance issues for clenning validation.STP Pharma pratiques 10 (5) 292-295, 2000.
- [19] Good Manufacturing Practices
- [20] C. Bolzan. La validation de nettoyage en industrie pharmaceutique. Validation des prérequis, principe et application au cas particulier d'une centrale de pesées. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri Poincare - NANCY 1, France. 09 Décembre 2008.
- [21] R. Boubeker, K. Bouaggar, Validation de nettoyage d'une centrale de pesée : Cas d'un site multi produits. Université Mammeri Mouloud. 2016/2017.
- [22] L. Chloe . Analyse de risques appliquée à la validation du nettoyage des équipements de fabrication de médicaments aérosols. Université de ROUAN. 2014.
- [23] MA. Zekri. Validation d'une méthode d'analyse : Dosage du phosphore assimilable par SmartChem140 .Mémoire de Master. Tlemcen. Université de Tlemcen . 2017.
- [24] Agence Nationale de Sécurité de Sécurité des Médicaments et des Produits de santé. Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication. 2016.
- [25] Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication. Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des Produits de santé. 2016.
- [26] Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche des microorganismes spécifiés. Pharmacopée européenne. EDQM. 2017 ; édition 9.0, chapitre 2.6.13, page 213.

- [27] Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche des microorganismes spécifiés. Pharmacopée européenne. EDQM. 2017 ; édition 9.0, chapitre 2.6.13, page 213.
- [28] Pharmacopée européenne. EDQM 9ème édition. 2017 ; tome 1 page.
- [29] F. Labon, J.Albadine, J. Barbu, M. Collard, M.Goncalves. « Méthodes de prélèvement et méthodes analytiques pour le contrôle et/ou la validation du nettoyage », STP pharma pratique, volume 15-N0 1(2005).
- [30] C. Michel , L.B Ester, F. Andreas, G. David , Dolan , O. Mohammad. Cleaning Limits-Why the 10-ppm and 0.001-Dose Criteria Should be Abandoned. Andrew Walsh. Pharmaceutical Technology. Volume 40, Issue 8.
- [31] J.Caporal-Gautier .J. Nivet. Guide de validation analytique-Rapport d'une commission SFSTP ; Partie I. Méthodologie : STP Pharma Pratiques. 1992.
- [32] P. Hubert, J.Nguyen-Huu . Validation des procédures analytiques quantitatives » : Harmonisation des démarches. STP Pharma Pratiques - volume 13 - N° 3.2003.
- [33] P. Hubert, J.Nguyen-Huu Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches. Partie II : Statistiques. STP Pharma Pratiques - volume 16 - N° 1. 2006 ; 28-58.
- [34] ICH Q2 (R1) ; Analytical validation , text and procedures International Conference Harmonization .2004.

The page features a decorative graphic consisting of three blue circles of varying sizes, each composed of concentric circles in different shades of blue. These circles are arranged vertically, with the largest at the top and bottom, and a smaller one in the middle. Two thin blue lines intersect at a point between the top and middle circles, forming a V-shape that points downwards. The word "Annexes" is centered on the page in a bold, dark blue, serif font.

Annexes

Annexe 1. Fiche technique du détergent

ANIOSTERIL DAC II

PROPRIETES MICROBIOLOGIQUES

BACTERICIDE : EN 1040, EN 1276.

COMPOSITION QUALITATIVE

N-(3-aminopropyl)-N-dodécylpropane-1,3-diamine (1.2%), tensioactif non ionique, agent alcalin et agents séquestrants.

PROPRIETES TECHNOLOGIQUES

Stabilité jusqu'à 80°C.
Produit non corrosif vis-à-vis des matériaux.
Produit dosable (différentes méthodes disponibles sur demande).

MODE D'EMPLOI

Solution concentrée pour usage professionnel.
A utiliser en circuit ou machine à laver automatique à la dilution de 1%.
Temps de contact minimum de 5 minutes.
Rincer à l'eau potable après chaque utilisation.

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

Dangereux - respectez les précautions d'emploi (Etablies selon la Directive 99/45/CE et ses adaptations).
Stockage entre +5°C et +35°C

CONDITIONNEMENTS

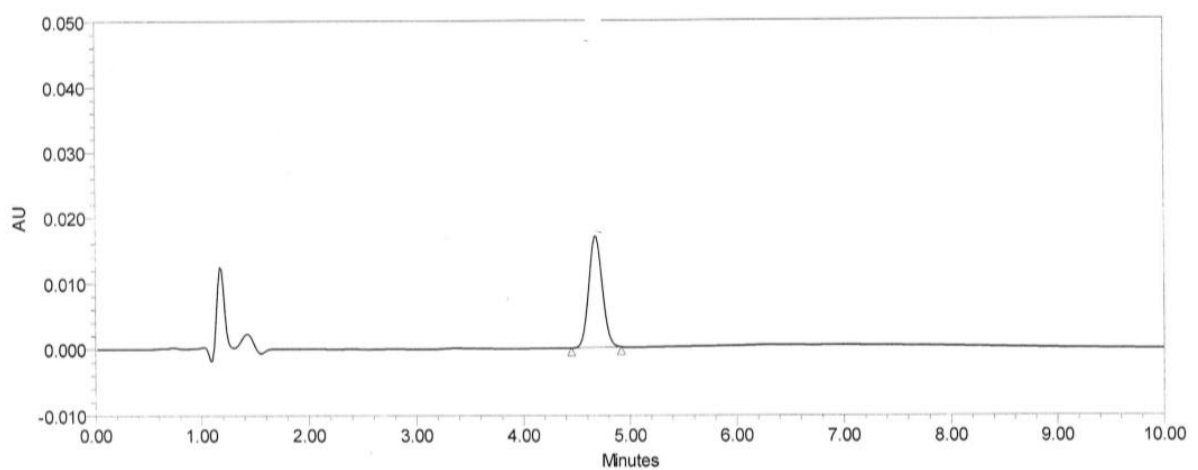
Bidon de 25 kg : 1471.018

Fût de 200 kg : 1471.005

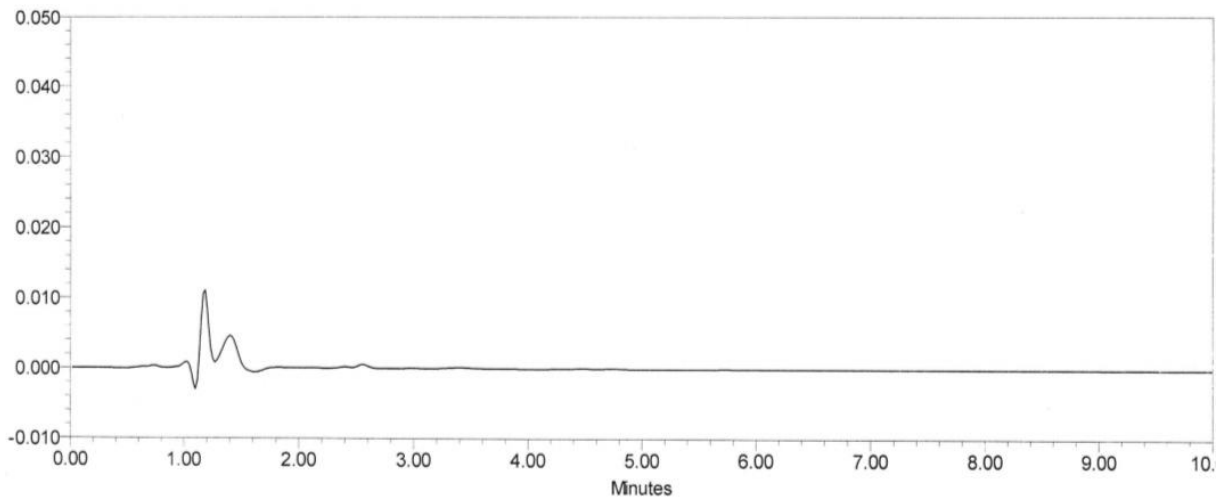
Container de 1000 kg : 1471.004


Laboratoires ANIOS
 Pavé du Moulin
 59260 Lille-Hellemmes - France
 Tél. +33 3 20 67 67 67 - Fax : +33 3 20 67 67 68
 Le professionnel de la désinfection www.anios.com

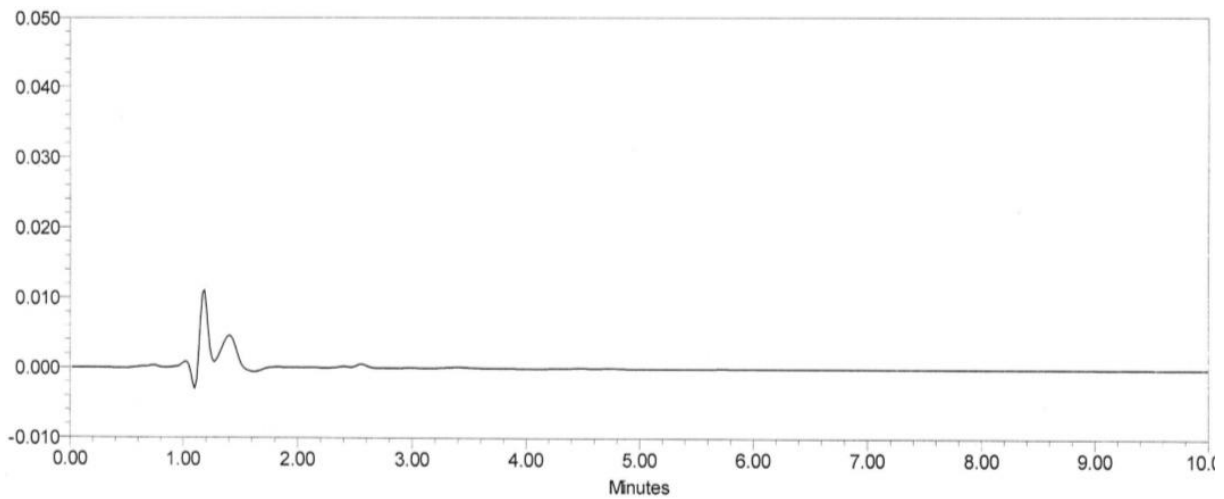

 194, Rue Boujemâs Khelil Oued Romane
 Tél.: +213 21 30 81 63 à 66
 Fax: +213 21 30 83 66
www.nosoclean.com

Annexe 2. Aspect visuel de l'isolateur de la compresseuse après nettoyage**Annexe 3.** Chromatogrammes de la molécule cytotoxique**Solution standard a 100%**

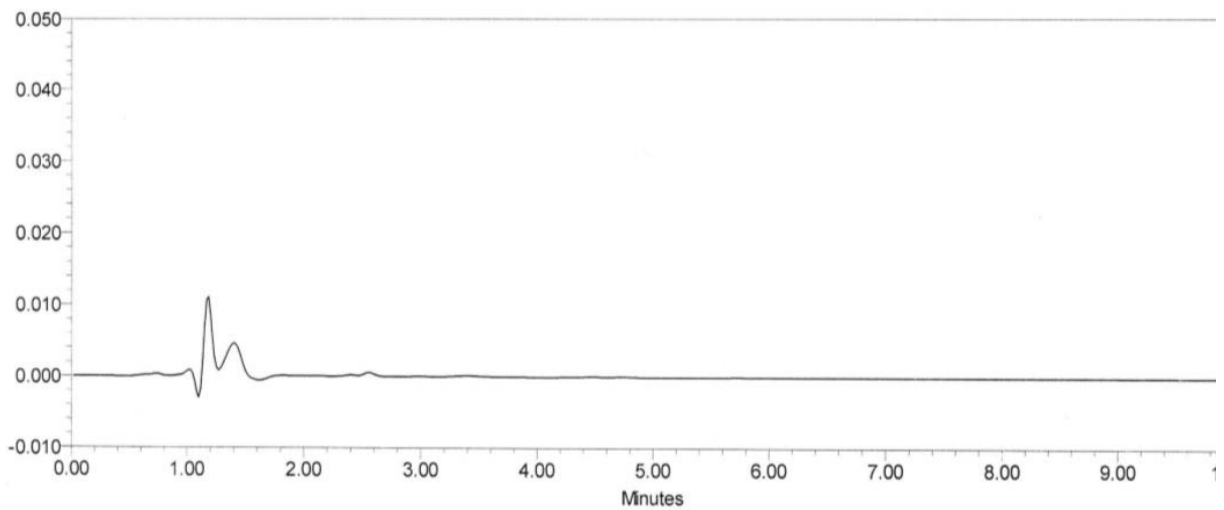
Blanc plaque



Blanc solvant



Blanc écouvillon



Annexe 4 : Calcul de la linéarité

Produit	Molécule cytotoxique
Méthode	HPLC
Date d'analyse	25/06/2022

Concentration théorique (Xi) en %	Concentration réelle (Xi réel) en µg/ml	Signal (Yi)	Y'	Yi-Yi'	Carré de Yi-Yi'	Xi-Xmoy	Carré de (Xi-Xmoy)	Carré de Xi
20	0,358	30126,000	29843,422	282,578	79850,175	-1,0561	1,11534721	0,128164
	0,358	30044,000	29843,422	200,578	40231,427	-1,0561	1,11534721	0,128164
	0,358	30186,000	29843,422	342,578	117359,503	-1,0561	1,11534721	0,128164
50	0,895	74700,000	74805,072	-105,072	11040,117	-0,5191	0,26946481	0,801025
	0,895	74758,000	74805,072	-47,072	2215,770	-0,5191	0,26946481	0,801025
	0,895	74665,000	74805,072	-140,072	19620,155	-0,5191	0,26946481	0,801025
75	1,343	112340,000	112273,113	66,887	4473,821	-0,0716	0,00512656	1,802306
	1,343	112410,000	112273,113	136,887	18737,948	-0,0716	0,00512656	1,802306
	1,343	112274,000	112273,113	0,887	0,786	-0,0716	0,00512656	1,802306
100	1,790	149114,000	149741,155	-627,155	393323,126	0,3759	0,14130081	3,204100
	1,790	149063,000	149741,155	-678,155	459893,914	0,3759	0,14130081	3,204100
	1,790	149177,000	149741,155	-564,155	318270,623	0,3759	0,14130081	3,204100
150	2,685	224886,000	224677,238	208,762	43581,735	1,2709	1,61518681	7,209225
	2,685	224937,000	224677,238	259,762	67476,499	1,2709	1,61518681	7,209225
	2,685	225340,000	224677,238	662,762	439253,985	1,2709	1,61518681	7,209225
Moyenne Xi	1,41410	Somme			2015329,58316	0,0000	9,43927860	39,43446

Annexe 5. Calcul de répétabilité

Produit	Molécule cytotoxique
Date d'analyse	25/06/2022
std (mg)	17,97

Concentration théorique en %	Concentration réelle en µg/ml	Signal Standard
50	1,797	74345,000
100	3,594	148167,000
150	5,391	227128,000

Concentration théorique en %	Signal	Concentration retrouvée en µg/ml	Recouvrement en %	Moyenne	Ecartype	%RSD
100	141415,000	3,395	94,5	94,8	0,6	0,6
	141689,000	3,401	94,6			
	143542,000	3,445	95,9			
	141105,000	3,388	94,3			
	141733,000	3,402	94,7			
	142370,000	3,417	95,1			

Annexe 6. Calcul de la Fidélité jour 1

Produit	Molécule cytotoxique
Date d'analyse	25/06/2022
Fidélité Jour N°	01
Pa std (mg)	17,90

Concentration théorique en %	Concentration réelle en µg/ml	Signal Standard
50	1,790	75263,000
100	3,580	150459,000
150	5,370	226169,000

Concentration theorique en %	Signal	Concentration retrouvée en µg/ml	Recouvrement en %	Moyenne	Ecartype	%RSD
50	66063,000	1,574	87,9	88,4	0,5	0,6
	66327,000	1,580	88,3			
	66795,000	1,591	88,9			
100	135091,000	3,211	89,7	89,6	0,2	0,3
	135273,000	3,216	89,8			
	134565,000	3,199	89,4			
150	201693,000	4,791	89,2	89,6	0,4	0,4
	203512,000	4,835	90,0			
	202613,000	4,813	89,6			

Annexe 7. Calcul de la Fidélité jour 2

Produit	Cytotoxique	
Date d'analyse	26/06/2022	
Fidélité Jour N°	02	
Pa std (mg)	17,97	
Concentration théorique en %	Concentration réelle en µg/ml	Signal Standard
50	1,797	74345,000
100	3,594	148167,000
150	5,391	227128,000

Concentration theorique en %	Signal	Concentration retrouvée en µg/ml	Recouvrement en %	Moyenne	Ecartype	%RSD
50	65206,000	1,602	89,2	89,5	0,4	0,4
	65778,000	1,616	89,9			
	65327,000	1,605	89,3			
100	141415,000	3,395	94,5	95,0	0,8	0,8
	141689,000	3,401	94,6			
	143542,000	3,445	95,9			
150	218478,000	5,208	96,6	96,3	1,0	1,0
	215187,000	5,130	95,2			
	219538,000	5,233	97,1			

Annexe 8. Calcul de la Fidélité jour 3

Produit	Molécule cytotoxique	
Date d'analyse	27/06/2022	
Fidélité Jour N°	03	
Pe std (mg)	17,97	
50	1,797	74440,000
100	3,594	149035,000
150	5,391	227419,000

Concentration theorique en %	Signal	Concentration retrouvée en µg/ml	Recouvrement en %	Moyenne	Ecartype	%RSD
50	66142,000	1,617	90,0	89,9	0,4	0,4
	65796,000	1,609	89,5			
	66377,000	1,622	90,3			
100	143193,000	3,427	95,4	95,3	0,3	0,3
	143406,000	3,432	95,5			
	142636,000	3,414	95,0			
150	218921,000	5,206	96,6	96,8	0,6	0,7
	221082,000	5,257	97,5			
	218262,000	5,191	96,3			

Annexe 9. Calcule LOD et LOQ

Signal (Yi)	Y'	Yi-Yi'	Carré de Yi-Yi'	Xi-Xmoy	Carré de (Xi-Xmoy)	Carré de Xi
3446,000	3284,648	161,352	26034,469	-1,0561	1,11534721	0,128164
3439,000	3284,648	154,352	23824,541	-1,0561	1,11534721	0,128164
3409,000	3284,648	124,352	15463,421	-1,0561	1,11534721	0,128164
8555,000	8508,149	46,851	2195,015	-0,5191	0,26946481	0,801025
8391,000	8508,149	-117,149	13723,892	-0,5191	0,26946481	0,801025
8431,000	8508,149	-77,149	5951,971	-0,5191	0,26946481	0,801025
12787,000	12861,067	-74,067	5485,851	-0,0716	0,00512656	1,802306
12887,000	12861,067	25,933	672,545	-0,0716	0,00512656	1,802306
12767,000	12861,067	-94,067	8848,512	-0,0716	0,00512656	1,802306
16999,000	17213,984	-214,984	46218,140	0,3759	0,14130081	3,204100
17001,000	17213,984	-212,984	45362,204	0,3759	0,14130081	3,204100
17006,000	17213,984	-207,984	43257,363	0,3759	0,14130081	3,204100
26192,000	25919,819	272,181	74082,455	1,2709	1,61518681	7,209225
26112,000	25919,819	192,181	36933,507	1,2709	1,61518681	7,209225
25941,000	25919,819	21,181	448,632	1,2709	1,61518681	7,209225
Somme			348502,51663	0,0000	9,43927860	39,43446

$$Y = aX + b$$

A	9727,18998
B	-197,6860149
N	15
Variance Y	26807,88589
Erreur sur l'ordonnée à l'origine	86,40805004
LOD (µg/ml)	0,029314382
LOQ (µg/ml)	0,088831461

Résumé :

Lors de la production d'un médicament, l'industrie pharmaceutique doit garantir sa qualité, sa sécurité et son efficacité. Le nettoyage occupe une place capitale au sein des processus d'assurance qualité. C'est le processus qui fiabilise l'absence de contamination et de ce fait garantir la qualité du médicament. Il est donc important d'éliminer les contaminants qui sont apportés par l'environnement, ou par le procédé de la fabrication lui-même.

Dans ce travail nous avons mis au point une méthodologie de nettoyage d'une forme sèche d'oncologie. Cette dernière est basé sur le choix du produit et de l'équipement pire cas, qui doit subir une validation de procédé de nettoyage. C'est une étape clé de la maîtrise de la contamination. Le choix du produit worst case se fait selon des critères d'acceptation, des paramètres physicochimiques ainsi que microbiologique. La validation de procédé de nettoyage permet de démontrer son efficacité et sa reproductibilité.

La validation de nettoyage est une démarche lourde, longue et coûteuse et qui implique un grand nombre de services. Leur étroite collaboration est indispensable afin de mener à bien cette validation et de garantir des résultats fiables : en effet, la moindre faille dans la procédure peut remettre en cause, voire invalider toute la démarche effectuée.

Mots-clés : Validation – Nettoyage – Industrie pharmaceutique –forme sèche.

Abstract :

When producing a drug, the pharmaceutical industry must ensure its quality, safety and efficacy. Cleaning plays a key role in the quality assurance process. It is the process that makes the absence of contamination reliable and thereby guarantees the quality of the drug. It is therefore important to eliminate contaminants that are brought by the environment, or by the manufacturing process itself. In this work we have developed a methodology for cleaning a dry form of oncology. This last is based on the choice of the worst case product and equipment, which must undergo a validation of the cleaning process. This is a key step in controlling contamination. The choice of the product in the worst case is made according to acceptance criteria, physicochemical and microbiological parameters. The validation of the cleaning process makes it possible to transmit its effectiveness and its reproducibility.

Cleaning validation is a cumbersome, long and costly process that involves a large number of services. Their close collaboration is essential in order to carry out this validation and to guarantee reliable results: indeed, the slightest flaw in the procedure can call into question or even invalidate the entire process carried out.

Keywords : Validation - Cleaning - Pharmaceutical industry - dry form.