

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement  
Supérieur et de la Recherche  
Scientifique  
Université Mouloud  
MAMMERI de Tizi Ouzou  
FACULTE DE MEDECINE  
Département de pharmacie



وزارة التعليم العالي والبحث  
العلمي  
جامعة مولود معمري بتيزي وزو  
كلية الطب  
قسم الصيدلة

ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ

N° D'ORDRE :

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie  
Intitulé ;

**Application de l'approche Data Integrity en Contrôle Qualité  
des produits Pharmaceutiques. Cas d'une analyse par  
Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).**

Réalisé par :

FERNANE Lamia  
HACHI Yasmine

OUADDA Sonia  
REGHAL Djouher

Encadré par : Pr M. MAMOU

Co-encadré par : Dr K. AKLI

Présenté et soutenu publiquement le 22/10/2020

Devant le jury composé de ;

Nom et Prénoms	Grade	Qualité	Etablissement
BENSISAID Hassan	MAHU	Président	UMMTO
TIGHRINE Abderrahmane	MAB	Examinateur	Université de BOUIRA
BOURSOUTI Mourad	Assistant	Examinateur	CHU Tizi-Ouzou
MAMOU Marzouk	MCA HU	Promoteur	UMMTO
AKLI Karima	Résidente	Co-promotrice	UMMTO

Année universitaire 2019/2020

## **Remerciements**

*Nous adressons nos sincères remerciements à toute personne qui, près ou de loin, a contribué à l'élaboration de ce modeste travail, nous voudrions remercier en particulier :*

*Notre promoteur de mémoire **Professeur M. MAMOU***

*Nous vous remercions chaleureusement pour votre implication, sens du devoir et le partage de votre savoir*

*Notre Co-promotrice **Dr KAKLI***

*Nous vous remercions chaleureusement pour votre temps, votre aide, vos conseils judicieux ainsi que vos remarques constructives.*

***Aux membres du jury***

*Nous vous remercions pour le temps que vous avez accordé à la lecture et l'évaluation de ce travail.*

*Merci à tout le personnel du laboratoire de chimie analytique qui ont mis en notre disposition tous les moyens nécessaires pour l'accomplissement de notre travail, nous tenons à remercier tous particulièrement **Dr A.ABDENNOURJ** qui nous a accompagné, orienté et qui a toujours su se montrer disponible.*

*Nous remercions aussi l'ensemble des enseignants du Département de Pharmacie de Tizi Ouzou qui ont contribué à notre formation.*

*Nous exprimons notre reconnaissance et gratitude à nos familles, amis, collègues et à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail, nous tenons à les remercier chaleureusement pour leurs soutien, encouragements et leurs fois en nous.*

## *Dédicaces*

*A la mémoire de ma grand-mère OUAZNA ;*

*A mes parents, qui m'ont toujours soutenu et poussé à donner le meilleur de moi, merci pour tout ;*

*A yemma azizen, en mon nom et celui de mes amies merci infiniment pour tous tes repas délicieux préparés avec attention et amour ;*

*A mes sœurs Djouher et Adidi merci pour vos conseils et votre soutien moral et financier ;*

*A ma sœur Dehbia son mari et notre petit Ghilas ;*

*A mon frère Saïd merci pour tous tes conseils et tes encouragements et à sa femme*

*A notre petit Meziane ;*

*A mes tantes et oncles en particulier **Khali Arezki** merci pour tout le soutien que tu nous a apporté depuis toujours, a khalti DEHBIA et ses enfants notamment Mohand AMEZIANE*

*A mes amies Djouher , Sonia Yasmine , Khadidja et Sadatlawliya merci pour tout et tous les moments passés ensemble*

*A mes amis Ilyass, Miloud , Amirouche , Faouzi , Mici , Kouceïla et Soumer merci pour votre soutien et encouragements .*

**FERNANE Lamia**

*A la mémoire de mes grands-parents ;  
A mes très chers parents, ma sœur et mes  
frères ainsi qu'à toute ma grande famille ;  
A tous mes amis ;  
A moi-même.*

**HACHI Yasmine**

*A la mémoire de mon père, de mon  
grand-père Ali et ma tante paternelle  
Lila partis trop tôt.*

*A ma très chère mère, sœur Tinhinane, à  
mes grands-parents maternels et ma  
grand-mère paternelle ;*

*A toute ma grande famille, à mes amis  
et à mon pays.*

**OUADDA Sonia**

*À la mémoire de mon héros, mon mentor, mon très cher Père parti trop tôt, dont le mérite et les sacrifices m'ont permis de réaliser ce travail.*

*À ma très chère Maman qui m'a toujours soutenue et continue à le faire dans chaque pas que j'entreprends.*

*À toi, tu sauras te reconnaître merci pour ton soutien, tes conseils et ta bienveillance.*

*À mon frère, sa femme, ma petite nièce LILA, à tous mes amis et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail, je vous dis merci.*

**REGHAL Djouher**

---

# **TABLE DES MATIERES**

---

# LISTE DES ABREVIATIONS

---

Liste des abréviations	i
Liste des tableaux	iii
Liste des figures	iv
Glossaire	v
<b>INTRODUCTION</b>	<b>01</b>
<b>OBJECTIFS</b>	<b>03</b>

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>Chapitre I : Furosémid</b>	
1. Définition	04
2. Propriétés physico-chimiques	05
3. Mécanisme de synthèse	05
4. Propriétés pharmacologiques	06
4.1. Propriétés pharmacocinétiques	06
4.1.1. Absorption	06
4.1.2. Distribution	06
4.1.3. Métabolisme	06
4.1.4. Elimination	06
4.2. Propriétés pharmacodynamiques et mécanisme d'action	06
5. Toxicité	07
<b>Chapitre II : Data Integrity</b>	
1. Historique	08
2. Définitions	10
3. Outils de la Data Integrity	10
3.1. Donnée	10
3.2. Métadonnée	10
3.3. Cycle de vie des données	11
3.4. Audit trail	11
3.5. Donnée originale	12
3.6. Copie conforme	12

# LISTE DES ABREVIATIONS

---

4. Principes ALCOA et ALCOA +	
4.1. ALCOA	
4.1.1. Attribuable	13
4.1.2. Lisible	13
4.1.3. Contemporain	14
4.1.4. Originale	14
4.1.5. Précis	14
4.2. ALCOA+	14
4.2.1. Complète	14
4.2.1. Cohérente	14
4.2.3. Durable	15
4.2.3. Disponible	15
5. Quelques problèmes relatifs au manquement de la data integrity	17
<b>Chapitre III : DMAICS</b>	
<b>1. Définition du DMAICS</b>	18
<b>2. Etapes du DMAICS</b>	19
2.1. Définir	19
2.1.1. Diagramme de Kano	19
2.1.2. QFD	20
2.1.3. Méthode du diagramme CTQ	20
2.1.4. QQQQCP	22
2.2. Mesurer	23
2.2.1. Feuille de relevé	23
2.2.2. Méthode des 5M	24
2.3. Analyse	24
2.3.1. Statistique descriptives	25
2.3.2. Statistique inférentielles	25
2.3.3. Méthode des 5P	26
2.4. Améliorer/Innover	27
2.4.1. Méthode de créativité	27

# LISTE DES ABREVIATIONS

---

2.4.1.1. Brainstorming	
2.4.2. Plan d'expérience	27
2.4.3. Vote pondéré	28
2.5. Contrôler	28
2.5.1. Maitrise des statistiques des procédés	28
2.5.2. Automaitrise	29
2.6. Standardiser	29
2.6.1. Benchmarking	29
2.6.2. L'audit trail	29

## PARTIE EXPERIMENTALE

I. Matériel et méthodes	31
1. Matériel	31
1.1. matière première	32
1.2. réactifs	32
1.3. appareillage et équipement	33
1.4. verreries et autres	33
1.5. conditions chromatographiques	33
1.6. logiciel d'intégration	33
2. méthodes	33
II. résultats et discussions	
1. résultats obtenus lors de la validation d'une méthode de dosage	35
1.1. Résultats de la validation	35
1.1.1. Standard d'étalonnage	35
1.1.2. Standard de validation	38
1.1.3. Profil d'exactitude	39
2. Discussion des premiers résultats obtenus	40
3. Application de la méthode DMAICS	45
4. Discussion des résultats obtenus après avoir appliqué le DMAICS	47
5. Données de validation après application du DMAICS	47
5.1. Standard d'étalonnage après application du DMAICS	47
5.2. Standard de validation après application du DMAICS	49
5.3. Profil d'exactitude après application du DMAICS	50
III. CONCLUSION GENERALE	52
IV. PERSPECTIVES	54
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

# LISTE DES ABREVIATIONS

---

**5M** : Matière, matériel, main d'œuvre, méthode, milieu

**5P** : Méthode des cinq pourquoi.

**ALCOA** : Attribuable, lisible, complet, original, contemporain, précis

**ANOVA** : Analysis of variance

**BPF** : Bonnes pratiques de fabrication

**CTQ** : Critical to Quality

**DL<sub>50</sub>** : Dose létale médiane

**DMAIC** : Acronyme de Définir Mesurer Analyser Innover Contrôler

**DMAICS** : Acronyme de Définir Mesurer Analyser Innover Contrôler standardiser.

**EMA**: European Medicines Agency.

**FDA**: Food and Drug Administration.

**GMP**: Good Manufacturing Practices.

**GPD** : Groupe de Discussion de la Pharmacopée (européenne)

**GXP**: Good practice guides

**H** : Heure

**HPLC**: High Performance Liquid Chromatography. (Chromatographie liquide haute performance).

**ICH**: International Conference on Harmonization.

**IEEE**: Institute of Electrical and Electronics Engineers

**ISO**: International Organization for Standardization

**IUPAC**: International Union of Pure and Applied Chemistry (Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée)

**Kg**: kilogramme

**LNCPP** : Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques

**Mg**: Milligramme

**MHRA**: Medicines and Healthcare products Regulatory Agency.

**Min**: minutes

**mL**: Millilitre

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**Pic/s**: Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme.

# LISTE DES ABREVIATIONS

---

**QFD** : Quality Function Deployment.

**QQOQCCP** : Quoi, Qui, Où, Quand, Comment, Combien, Pourquoi.

**T°** : Température

**TEST-T**: Test de students

**T<sub>R</sub>** : Temps de rétention

**WHO**: World Health Organization

# LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau I</b> : Résumé des caractéristiques physicochimiques du furosémide	05
<b>Tableau II</b> : Résumé de la toxicité aigüe du furosémide chez les rats et souris	07
<b>Tableau III</b> : Principaux textes règlementaires et normatifs liés à la data integrity et leurs évolutions	09
<b>Tableau IV</b> : Résumé des principes ALCOA <sup>+</sup> et leurs définitions	16
<b>Tableau V</b> : Récapitulatif de la méthode QQQQCP	21
<b>Tableau VI</b> : Résumé de la matière première utilisée	31
<b>Tableau VII</b> : Réactifs utilisés	32
<b>Tableau VIII</b> : Récapitulatifs des appareillages utilisés	32
<b>Tableau IX</b> : Verreries et autres matériels utilisés	33
<b>Tableau X</b> : Résumé des outils utilisés pour chaque étape du DMAICS	34
<b>Tableau XI</b> : Standard d'étalonnage non valide	35
<b>Tableau XII</b> : Standard de validation non valide	37
<b>Tableau XIII</b> : Profil d'exactitude non valide	37
<b>Tableau XIV</b> : Application de la méthode QQQQCP	40
<b>Tableau XV</b> : Méthode des 5M couplée au DMAICS	41
<b>Tableau XVI</b> : Standard d'étalonnage après application de la méthode DMAICS	41
<b>Tableau XVII</b> : Standard de validation après application de la méthode DMAICS	49
<b>Tableau XVIII</b> : Profil d'exactitude après application de la méthode DMAICS	50

# LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 01</b> : Structure chimique développée en 3D du furosémide	04
<b>Figure 02</b> : Schéma de la synthèse chimique du furosémide	05
<b>Figure 03</b> : Schéma représentatif du mécanisme d'action du furosémide	07
<b>Figure 04</b> : Cycle de vie d'une donnée	11
<b>Figure 05</b> : Principe de l'acronyme ALCOA	13
<b>Figure 06</b> : Schéma représentant les étapes du DMAICS	19
<b>Figure 07</b> : Diagramme de KANO	18 20
<b>Figure 08</b> : Schéma récapitulatif de la méthode CTQ	21
<b>Figure 09</b> : Schéma récapitulatif de la méthode QQQCP	22
<b>Figure 10</b> : Schéma représentant le diagramme d'ISHIKAWA	24
<b>Figure 11</b> : Schéma récapitulatif de la méthode 5P	26
<b>Figure12</b> : Image du logiciel LC system de la HPLC.	33
<b>Figure13</b> : Fonction de réponse du standard d'étalonnage non valide.	36
<b>Figure 14</b> : Représentation graphique du profil d'exactitude non valide.	40
<b>Figure 15</b> : Schéma représentant l'application du diagramme d'ISHIKAWA	42
<b>Figure 16</b> : Fonction de réponse d'étalonnage après application de la méthode DMAICS.	48
<b>Figure 17</b> : Profil d'exactitude obtenu après application du DMAICS.	50

# GLOSSAIRE

---

**Alcalose** : Trouble de l'équilibre entre les acides et les bases de l'organisme (sang), avec prédominance de l'alcalinité.

**Biotransformation** : Ensemble des modifications subies par une substance introduite dans l'organisme.

**Diurétique** : Un diurétique est une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire.

**GXP** : Acronyme pour les différents guides de bonnes pratiques régissant les activités préclinique, clinique, de fabrication, des essais, de stockage, de distribution et post-commercialisation pour les produits pharmaceutiques, biologiques et les dispositifs médicaux, comme les bonnes pratiques de laboratoire, les bonnes pratiques cliniques, les bonnes pratiques de fabrication, les bonnes pratiques de pharmacovigilance et les bonnes pratiques de distribution

**Hémodynamique** : Est la science des propriétés physiques de la circulation sanguine en mouvement dans le système cardio-vasculaire.

**Ototoxicité** : Toxicité à l'encontre de l'oreille interne se traduisant par une atteinte de l'appareil cochléaire (troubles de l'audition) et/ou de l'appareil vestibulaires (troubles de l'équilibre).

**Pharmacocinétique** : Étude du devenir des médicaments dans l'organisme.

**Salidiurétique** : Se dit d'une substance qui augmente l'élimination urinaire de l'eau et du sodium.

.

---

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

---

# INTRODUCTION

---

# INTRODUCTION

---

La qualité a pris une importance considérable au cours de l'histoire dans l'industrie, à tel point que des outils spécifiques ont été créés pour permettre son management et son amélioration continue [1].

Plusieurs approches de management ont vu le jour ces dernières décennies notamment la Data intégrité, cette dernière est au cœur des évolutions réglementaires que ce soit aux Etats-Unis ou encore en Europe. C'est quoi la Data integrity ? Pourquoi un tel engouement autour de cette approche ? [2].

L'intégrité des données est : « la mesure dans laquelle toutes les données doivent être complètes, cohérentes et précises tout au long de leur cycle de vie » [3]. En effet lors des inspections par les autorités de santé au niveau mondial, il est constaté une recrudescence de manquements graves à ce principe : données supprimées ou non prises en compte, re-tests jusqu'à la conformité, perte ou manque de traçabilité, voire la falsification des données [2].

Toute mauvaise manipulation des données, même involontaire peut compromettre la qualité, la sécurité et l'efficacité du produit et en fin de compte la santé publique. En outre les problèmes de la data integrity deviennent rapidement une menace pour la rentabilité du fabricant des produits pharmaceutiques. L'impact en termes de pertes de ventes des produits concernés et les coûts de remédiation sont bien documentés [4].

Parmi les problèmes rencontrés liés aux manquements de la Data integrity, celui de l'intégrité des pics chromatographiques. Ce dernier a fait objet de notre travail qui a été effectué au niveau du laboratoire de chimie analytique de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou.

Durant ce dernier, une étude complète de validation analytique d'une méthode de dosage du furosémide par HPLC a été réalisée et trois séries ont été préparées. Les résultats obtenus lors de cette validation demeurent non valides. L'application de la méthode DMAICS permettra d'identifier et de résoudre ce problème rencontré afin d'obtenir des résultats valides.

Ce qui nous a poussé à poser les questions suivantes : Pourquoi les résultats ne sont pas valides ? Quels sont les facteurs et les causes responsables de ces résultats non valides ? Comment le DMAICS peut-il les déceler et y remédier ? Quelles sont les outils auxquels ce dernier fait appel ? quel rôle la Data integrity peut-elle jouer pour éviter ces problèmes ?

# INTRODUCTION

---

Autant de questions auxquelles nous allons tenter de répondre. Pour ce faire, nous avons subdivisé notre manuscrit en deux parties distinctes, une partie bibliographique et une partie expérimentale.

**La partie théorique englobe trois chapitres :**

**Chapitre I :** Traite les propriétés physicochimiques, pharmacologiques et toxicologiques du furosémide ;

**Chapitre II :** Développe les principes et les outils de la Data integrity ;

**Chapitre III :** Dédié au DMAICS qui est une méthode de résolution des problèmes ainsi que les différents outils auxquels elle fait appel ;

**La partie pratique** traitera de matériel et méthodes utilisées afin de détecter et de résoudre le problème par les différents outils cités préalablement et discussion des résultats obtenus.

Nous finirons la rédaction du présent manuscrit avec une conclusion générale et quelques recommandations.

# OBJECTIFS

---

L'objectif principal de notre travail est la mise en place et le développement de l'approche data integrity au laboratoire de Chimie Analytique du Département de Pharmacie de Tizi Ouzou, approche reposant sur le principe de l'ALCOA<sup>+</sup> qui exige que les données soient attribuables, lisibles, compréhensibles, originales, précises, complètes, cohérentes, durables et disponibles.

Outre cet objectif principal, les objectifs secondaires assignés à ce travail sont :

- l'application de la méthode DMAICS dans le but d'identifier et de résoudre un problème majeur rencontré lors de la validation d'une méthode de dosage du furosémide par HPLC ; reposant sur l'intégration des pics chromatographiques ;
- validation d'une méthode de dosage d'un principe actif dans un produit fini pharmaceutique selon le protocole basé sur le profil d'exactitude ;
- réalisation d'une analyse chromatographique par HPLC.

# CHAPITRE I

---

## FUROSEMIDE

# CHAPITRE I : FUROSEMIDE

---

Les diurétiques sont des médicaments capables d'augmenter la diurèse en provoquant une élimination rénale accrue des électrolytes et de l'eau provenant du liquide extracellulaire. On distingue trois grandes classes de diurétiques, leur classification est basée sur le site d'action : les diurétiques thiazidiques, diurétiques épargnants de potassium et les diurétiques de l'anse de Henlé.

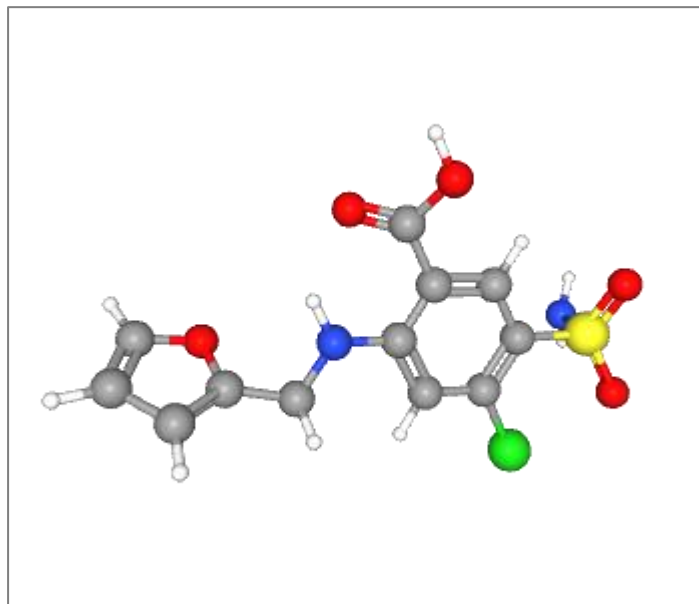
Les diurétiques de l'anse sont appelés ainsi car ils agissent précisément au niveau de l'anse de Henlé du néphron, ils ont une action diurétique puissante, rapide et brève, persistante en cas d'insuffisance rénale. La molécule la plus utilisée est le Furosémide.

## 1. Définition

Le furosémide est un diurétique de l'anse à action puissante et rapide, commercialisé sous plusieurs spécialités pharmaceutiques. Ce dernier peut se présenter sous différentes formes galénique (comprimés, formes injectables) [5].

Le furosémide fait partie des diurétiques les plus prescrits. Il agit principalement au niveau du rein plus précisément dans la partie ascendante de l'anse de Henlé. Ce médicament est utilisé dans différentes pathologies telles que les œdèmes, l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque et cas d'insuffisance rénale chronique [6].

La structure en 3D du furosémide est représentée dans la figure ci-dessous :



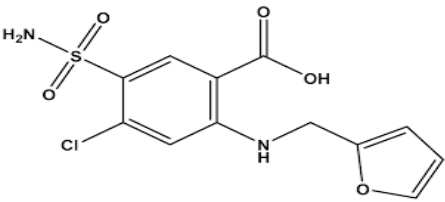
**Figure 01 : Structure en 3D du Furosémide [7].**

# CHAPITRE I : FUROSEMIDE

## 2. Propriétés physicochimiques

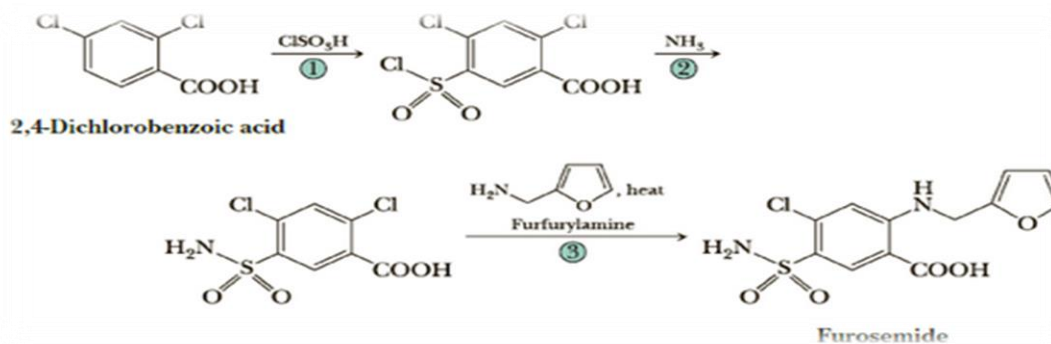
Les caractères physicochimiques du Furosémide sont résumés dans le tableau I ci-dessous :

**Tableau I : Résumé des caractères physicochimiques du furosémide [5].**

<b>IUPAC</b>	Acide 4-chloro-2-[(furan-2-ylméthyl)amino]-5-sulfamoylbenzoïque.
<b>Structure</b>	
<b>Formule chimique brute</b> <b>N° de CAS</b>	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S [54-31-9]
<b>Masse molaire relative</b>	<b>330,7 g/Mol</b>
<b>pKa</b>	<b>3.9</b>
<b>Teneur</b>	<b>98,5 pour cent à 101,0 pour cent</b> (substance desséchée).
<b>Point de fusion</b>	Environ <b>210 °C</b> , avec décomposition.
<b>Solubilité</b>	Pratiquement insoluble dans l'eau et dans le chlorure de méthylène, soluble dans l'acétone et dans les solutions d'hydroxydes alcalins, assez soluble dans l'éthanol à 96°.
<b>Propriétés organoleptiques</b>	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche. [1]

## 3. Mécanisme de synthèse

La synthèse du furosémide commence par le traitement de l'acide 2,4-dichlorobenzoïque avec l'acide chlorosulfonique ; cette réaction est appelée chlorosulfonation (figure 2). Le produit de cette réaction est traité par l'ammoniaque suivi d'un chauffage en présence du furfurylamine [8].



**Figure 02 : Schéma de la synthèse chimique du furosémide [8].**

# CHAPITRE I : FUROSEMIDE

---

## 4. Propriétés pharmacologiques

### 4.1. Propriétés pharmacocinétiques

#### 4.1.1. Absorption

L'absorption digestive est rapide mais incomplète. La concentration plasmatique maximale est obtenue en 60 minutes. L'absorption digestive est ralentie mais non diminuée par la présence des aliments.

La biodisponibilité du furosémide en solution orale est de 65 % et donc équivalente à celle du furosémide en comprimé [9].

#### 4.1.2. Distribution

La liaison du médicament aux protéines plasmatiques est de 96 à 98 % [9].

#### 4.1.3. Biotransformation

Une faible partie du furosémide résorbée est inactivée par glycuconjugaion hépatique et sans doute rénale [9].

#### 4.1.4. Elimination

La demi-vie d'élimination est de 50 minutes. La clairance plasmatique se situe entre 2 et 3 ml/min/kg. Elle résulte d'une élimination urinaire et digestive (en partie biliaire).

L'élimination rénale est prépondérante, elle est rapide et concerne la forme active.

Le furosémide traverse la barrière fœtoplacentaire et par le lait maternel [9].

### 4.2. Propriétés pharmacodynamiques et mécanisme d'action

#### 4.2.1. Activité salidiurétique

L'activité salidiurétique se fait en premier lieu par l'inhibition de la réabsorption du chlore suivi par celle du sodium au niveau de la branche large ascendante de l'anse de Henlé. Cette action se fait par compétition sélective au niveau du Co-transporteur  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ , il permet d'augmenter l'excrétion du sodium. Ces diurétiques ont également une action importante sur l'élimination du calcium [9].

#### 4.2.2. Action anti hypertensive et autres

Le furosémide possède une action hémodynamique se caractérisant par la diminution de la pression capillaire pulmonaire avant même l'apparition de toute diurèse.

Le furosémide traite toutes les formes de rétention hydro-sodée avec une réponse proportionnelle à la dose [9].

Le furosémide exerce une action hypotensive qui résulte à la fois de la déplétion sodée et de l'action hémodynamique.

# CHAPITRE I : FUROSEMIDE

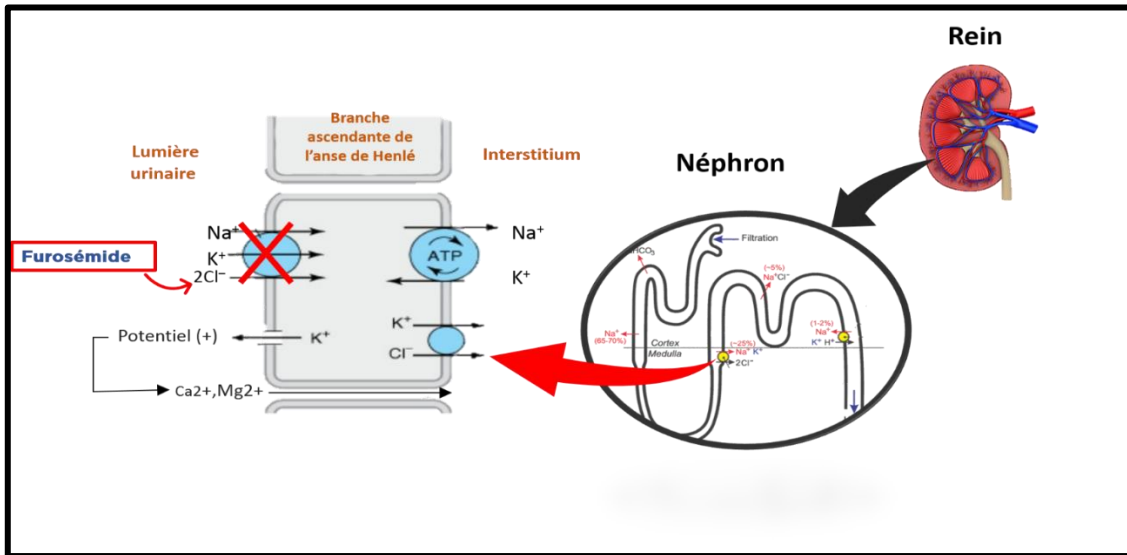


Figure 03 : Schéma représentatif du mécanisme d'action du furosémide

## 5. Toxicité

### 5.1. Chez l'animal

#### Toxicité aiguë

La toxicité aiguë due au Furosémide est résumée dans le tableau suivant :

Tableau II : Résumé de la toxicité aiguë chez les souris et les rats adultes [10].

Animal	Dose létale (DL50)	Signes cliniques
Souris	300mg/kg	Collapsus vasomoteur -Déshydratation - Perte d'électrolytes -Diminution de l'activité motrice
Rats adultes	700mg/kg	

### 5.2. Chez l'homme

A nos jours, aucune étude de la toxicité du furosémide sur l'homme n'a été faite mais il y'a des effets liés à une prise chronique.

En cas de surdosage ou de prise chronique le furosémide peut provoquer [10] :

- alcalose métabolique hypokaliémie ;
- ototoxicité ;
- hyperuricémie ;
- hypomagnésémie.

# CHAPITRE II

---

## **DATA INTEGRITY**

# CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

---

La maîtrise de la Data Integrity est devenue une préoccupation majeure des autorités de santé, en effet lors des inspections ces dernières années des manquements graves ont été constatés au niveau mondial.

Assurer l'intégrité des données constitue un composant important de la responsabilité du fabricant à assurer la sécurité, l'efficacité et la qualité des médicaments, c'est pour cela que les autorités de santé s'attendent des industriels à mettre en œuvre des stratégies efficaces ; les fabricants, distributeurs ou exploitants doivent être en mesure de détecter les failles, dans l'organisation ou les systèmes (qu'ils soient papier ou électroniques), qui peuvent mener à une altération involontaire ou volontaire des données et entraîner une décision erronée.

En effet l'intégrité des données est le socle d'une décision fiable et robuste [2].

## 1. Historique

S'il est un sujet d'actualité, la Data Integrity n'en est pas pour autant un sujet récent. La FDA a publié la première guideline en 1963 et l'IEEE « Institute of Electrical and Electronics Engineers » définissait déjà ce terme dans les années 1990 comme étant les mesures par lesquelles un ensemble de données est complet, cohérent et exact (complète, consistant and accurate), définition faisant toujours consensus aujourd'hui. La FDA émettait des « Warning letters » sur ce point au début des années 2000[11].

Les règlements ont été mis à jour régulièrement au cours des quatre dernières décennies en se focalisant de plus en plus sur les questions importantes qui assurent l'intégrité des données.

Ces principaux règlements et leur mise à jour sont résumés dans le tableau ci-après :

## CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

**Tableau III : Principaux textes réglementaires et normatifs liés à la Data Integrity et leurs évolutions [12]**

Année	Instance réglementaire	Textes élaborés
1963	US FDA	21 CFR Part 113 changé en 1975 à l'actuel Parts 210 et 211
1993	US FDA	Inspection of Pharmaceutical Quality Control Laboratories
1997	US FDA	21 CFR Part 11
2006	ICH	Q10 Pharmaceutical Quality System
	WHO	Validation of computerized systems technical report series No 937
	US FDA	Quality systems approaches to pharmaceutical cGMP Regulations ,21CFR Parts 210 and 211
2007	PIC/S	Good Practices for Computerized Systems in Regulated "GXP" Environments
	US FDA	Computerized systems used in clinical investigations
2010	US FDA	Data Integrity Inspection Focus
2015	MHRA	MHRA GMP Data integrity Definitions and Guidance for industry
	MHRA	MHRA GMP Data Integrity, Part I, 25 <sup>th</sup> June
	MHRA	MHRA GMP Data Integrity, Part II, 14 <sup>th</sup> July
	MHRA	MHRA GMP Data Integrity, Part III, 27 <sup>th</sup> August
	WHO	WHO Draft Guidance on Good Data and Record Management Practices
	US FDA	Current good Manufacturing Practice for Combination Products, 21 CFR Part 4
2016	US FDA	Data Integrity and Compliance with cGMP - <i>Draft version-</i>
	MHRA	MHRA GXP Data Integrity Guidance and Definitions, <i>Draft version</i>
	PIC/S	<i>Good Practices for Data Management and Integrity in Regulated GMP/GDP Environments – Draft version 1, August 2016</i>
	EMA	<i>Questions and answers: Good Manufacturing Practice - Data Integrity (August 2016)</i>
	WHO	<i>Annexe 5: Guidance on Good Data and Record Management Practices final</i>
2018	USA FDA	Data integrity and Compliance with cGMP Questions and Answers- Guidance for industry - <i>Final Version</i>
	MHRA	MHRA GXP Data Integrity Guidance and Definitions; Revision 1: March 2018 - <i>Final version-</i>
	PIC/S	Good Practices for Data Management and Integrity in Regulated GMP/GDP Environments - <i>Draft 3 version-</i> .

# CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

---

## 2. Définitions

Selon la **FDA**, l'intégrité des données se réfère à l'exhaustivité, à la cohérence et l'exactitude des données. Les données doivent être complètes, cohérentes et exactes attribuables, lisibles, enregistrés au même moment, originales ou copies conformes, et précises (ALCOA) [13].

L'intégrité des données est essentielle tout au long de leur cycle de vie, y compris lors de leur créations, la modification, le traitement, la conservation, l'archivage, l'extraction, la transmission et l'élimination des données après la fin de la période de conservation du dossier [13].

## 3. Outils de la Data Integrity

Les différentes lignes directrices émises sur la Data Integrity ont introduit une terminologie, qu'il est important d'assimiler, bien que certaines définitions puissent varier légèrement d'un texte à l'autre. L'interprétation correcte de certains termes conduit à une meilleure maîtrise de l'intégrité des données.

### 3.1. Donnée

Se présente sous forme de : faits, chiffres et statistiques collectés à des fins de référence ou d'analyse.

Tous les enregistrements originaux et les copies fidèles des enregistrements originaux, y compris les données sources et les métadonnées et toutes les transformations et rapports ultérieurs de ces données, qui sont générés ou enregistrés au moment de l'activité GXP et permettent une reconstruction et une évaluation complètes de l'activité GXP [3].

Les données sont générées [3] :

- par des systèmes papier d'une observation manuelle ;
- par système électronique en utilisant des équipements, allant de la simple machine aux systèmes informatiques hautement configurables ;
- par systèmes hybrides où les enregistrements papier et électroniques constituent le document original ;
- par d'autres moyens tels que la photographie, l'imagerie, les plaques de chromatographie, etc.

# CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

## 3.2. Métadonnée

Les métadonnées sont des données qui décrivent les attributs d'autres données, elles fournissent le contexte et la relation avec les données primaires [3].

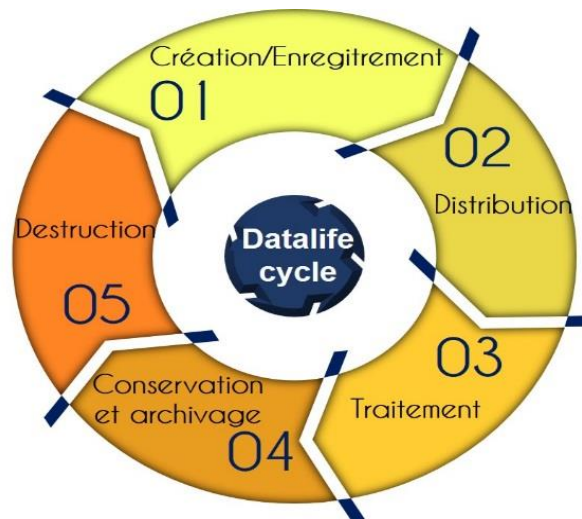
Par exemple : « 3 mg ». Dans cet exemple, c'est l'information additionnelle – mg – qui donne le sens de la donnée.

Pour être pertinente, la documentation doit être accompagnée d'attributs tels que le titre, l'auteur, l'horodatage... Il s'agit d'informations structurées qui décrivent, expliquent ou facilitent la récupération, l'utilisation ou la gestion des données.

Les métadonnées font partie intégrante de l'enregistrement original. Sans le contexte fourni par les métadonnées, les données n'ont aucune signification [3].

## 3.3. Cycle de vie des données

Le cycle de vie des données s'étend de leur création jusqu'à leur retrait et destruction, en passant par les processus de leur transformation, revue, stockage et utilisation pour la prise de décision [3]. Le cycle de vie d'une donnée est représenté dans le schéma ci-dessous :



**Figure 04 : Cycle de vie d'une donnée**

Cette dernière notion révèle la criticité de ce concept. En effet, toute vulnérabilité au niveau du système qualité liée aux données critiques peut conduire à une décision erronée et mettre en péril la qualité des produits et/ou la sécurité des patients [14].

## 3.4. Audit trail

Tel que défini dans les directives de la FDA, un audit trail est un enregistrement électronique sécurisé, généré par ordinateur, horodaté et qui permet de reconstituer les événements relatifs à la création, à la modification ou à la suppression d'un enregistrement

## CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

---

électronique [13]. L'audit trail est considéré comme une métadonnée, car il permet de connaître le « quand », le « qui », le « quoi » et le « pourquoi » d'une modification.

### 3.5. Donnée originale

Une donnée originale est la première capture d'information, elle peut être :

- **Statique** : Comme un enregistrement sur papier ou une image électronique, elle fixe et permet peu ou pas d'interactions entre l'utilisateur et le contenu de l'enregistrement. Par exemple, une fois imprimée ou convertis en format électronique statique, les enregistrements chromatographiques perdent la possibilité d'être retraités ou de permettre une visualisation plus détaillée [3].
- **Dynamique** : Comme un enregistrement électronique, elle permet une interaction entre l'utilisateur et le contenu de l'enregistrement. Par exemple: un chromatogramme enregistré sous forme dynamique où les paramètres d'intégration peuvent être modifiés. Les informations capturées à l'origine dans un état dynamique doivent rester disponibles dans cet état [3].

### 3.6. Copie conforme (True Copy)

C'est une copie (quel que soit le type de support utilisé) de l'enregistrement d'origine qui a été vérifiée et certifiée (c'est-à-dire par une signature datée ou générée par un processus validé) pour confirmer qu'il s'agit d'une copie exacte et complète qui préserve l'intégralité du contenu et de la signification du document original pour avoir les mêmes informations, y compris dans le cas des métadonnées [3].

## 4. Principes ALCOA et ALCOA<sup>+</sup>

Les autorités s'accordent à considérer que le *Data Integrity* est couverte lorsque les données respectent les exigences ALCOA (*Attributable, Legible, Contemporaneous, Original et Accurate*). Cet acronyme résume les caractéristiques qui démontrent que les événements subis par les données ont été correctement documentés et que celles-ci peuvent être utilisées pour supporter une décision.

# CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

## 4.1. ALCOA

L'acronyme ALCOA signifie que les données doivent être attribuables, lisibles, enregistrées à temps, originales et exactes [14]. ce dernier est résumé dans le schéma ci-dessous:

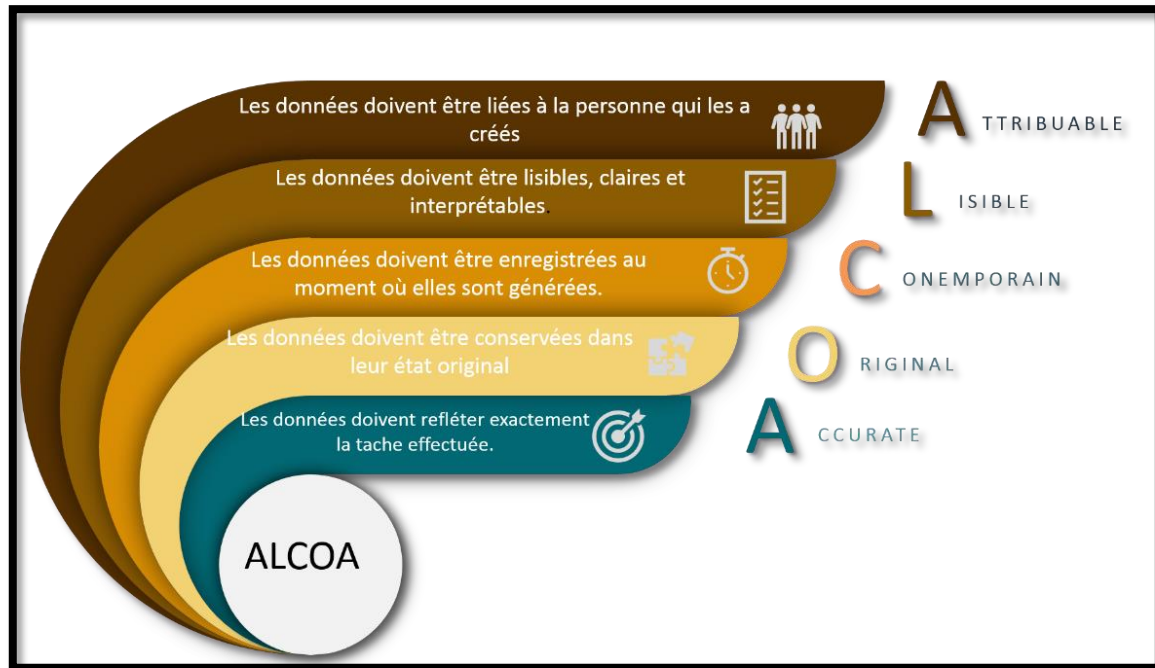


Figure 05 : Principe de l'acronyme ALCOA

### 4.1.1. Attribuable

Chaque donnée doit être attribuable à la personne qui l'a générée. Elle doit inclure les détails de la personne qui a effectué l'action et quand elle a été effectuée. Cela peut être fait à la fois physiquement (signature, mises des initiales et datation et d'un document papier) ou électroniquement (via un système numérique) [15].

Elle nécessite l'utilisation de comptes d'utilisateurs uniques et sécurisés. L'utilisation d'identifiants uniques et personnels permet de lier les personnes à la création, la modification ou la suppression des données, ce qui garantit la traçabilité [15].

### 4.1.2. Lisible

Toutes les données enregistrées doivent être lisibles et permanentes afin qu'elles soient fiables tout au long de leur cycle de vie, de sorte qu'elles permettent de se faire une idée précise de l'enchaînement dans les étapes ou les événements. Cela est particulièrement important dans l'industrie pharmaceutique, car une erreur d'orthographe pourrait mener à l'administration d'un tout autre médicament [15].

## CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

---

### 4.1.3. Contemporain

Cela signifie que les données doivent toujours être enregistrées au moment où l'action ou l'évènement a été effectué, aucune donnée ne doit être enregistrée rétrospectivement ou transcrite prospectivement. Pour se faire il est essentiel de s'assurer que les heures soient synchronisées, ou même d'avoir un système d'horloge centrale avec lequel tous les autres ordinateurs pourraient se synchroniser [15].

### 4.1.4. Originale

Les données doivent être directement notées sur un support cela peut être un formulaire ou un protocole ou un bloc note dédié ou une base de données, n'a pas vraiment d'importance tant qu'il est conservé dans sa forme d'origine. Une procédure d'enregistrement standardisée résout de nombreux problèmes liés à l'originalité des données [15].

### 4.1.5. Précis

Cela signifie que les données doivent être véridiques exempts d'erreur et reflétant les observations faites. La modification des données sans enregistrement signifie que leur précision est perdue, il est donc capital de toujours enregistrer pourquoi, quand, et qui (métadonnée) a changé l'enregistrement de données [15].

## 4.2. ALCOA<sup>+</sup>

En plus des cinq principes originaux d'intégrité des données quatre autres principes ont été ajoutés pour créer ALCOA<sup>+</sup> qui précise un peu plus les attendus.

ALCOA<sup>+</sup> est un acronyme utilisé pour "attribuable, lisible, contemporain, original et précis", en plus il met l'accent sur les critères suivants : complète, cohérente, durable et disponible [15].

### 4.2.1. Complète

Toutes les données qui seraient essentielles pour recréer un événement doivent être enregistrées. Le niveau de détail requis pour qu'une donnée soit considérée comme complète dépend de sa criticité. Une donnée générée électroniquement est considérée complète quand elle comprend des métadonnées pertinentes [15].

### 4.2.2. Cohérente

Les données doivent s'afficher de manière cohérente ; elles doivent refléter une séquence logique d'événements. Pour cela les bonnes pratiques de documentation doivent être appliquées tout au long des processus, sans exception, y compris les écarts qui peuvent se produire au cours du processus. Cela inclut la saisie de toutes les modifications apportées aux données [15].

## CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

---

### **4.2.3. Durable**

Cela signifie que les données doivent rester intactes, indélébiles et protégées de toute altération, perte ou dommage pendant toute la durée de leur conservation. Cela permet de les rendre accessibles pendant toute la période au cours de laquelle il pourrait être nécessaire de les consulter [15].

### **4.2.4. Disponible**

Les données doivent être disponibles à tout moment pendant leur période de conservation, elles doivent être accessibles dans un format lisible au personnel concerné responsable de leur examen, pour pouvoir effectuer des enquêtes, rapports annuels, audits ou d'inspection [15].

Si ces éléments sont appliqués de manière appropriée à tous les domaines applicables des activités liées aux BPF, ainsi qu'aux autres éléments du système de qualité pharmaceutique, la fiabilité des informations utilisées pour prendre des décisions critiques concernant les médicaments devrait être assurée de manière adéquate [15].

## CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

**Tableau IV : Résumé des principes d'ALCOA<sup>+</sup> et leurs définitions [2]**

Principes	Définitions	Comment y PARVENIR ? (Exemples).
Attributable ( <i>Attributable</i> )	Les données doivent être liées à la personne qui les a créés. Il doit être possible d'identifier l'individu qui les a générées ou modifiées	-Enregistrement d'un identifiant informatique -Signature manuscrite
Legible ( <i>Lisible</i> )	Les données doivent être lisibles, claires et interprétables. Toute modification ne doit pas cacher la mention originale	-Contrôle sur les modifications des données. -Audit trail. -Archivage.
Original (Originale )	Les données doivent être directement notées sur un support de tel sorte qu'elles soient conservées dans sa forme d'origine.	-Sous forme d'un formulaire a remplir. -Réaliser un protocole. -Ou sous forme d'un bloc note.
Contemporaneous ( <i>Contemporain</i> )	Les données doivent être enregistrées au moment où elles sont générées. La date et l'heure de la réalisation doivent être indiquées	-Enregistrement des données sur support définitifs. -Synchronisation horaire. -Limitation des mémoires temporaires.
Accurate ( <i>Précise</i> )	Les données doivent refléter exactement la situation ou la mesure effectuée.	-Calibration des instruments mesures. -Revue des données et des métadonnées. -Contrôles sur les données.
Complete ( <i>Complète</i> )	Les données doivent permettre de retracer tous les événements conduisant aux résultats finaux	-Toutes les données, y compris la répétition ou la nouvelle analyse effectuée sur l'échantillon doivent être gardés
Consistent ( <i>Cohérente</i> )	Les données doivent refléter une séquence logique d'événements	-Tous les éléments de l'étude, tels que les séquences d'événements, sont datés ou horodatés dans les séquences prévues
Enduring ( <i>Durable</i> )	Les données doivent être protégées des altérations, perte ou dommage durant leur durée de conservation	- Les données doivent être enregistrées sur des feuilles de travail contrôlées, des cahiers de laboratoire ou des supports électroniques
Available ( <i>Disponible</i> )	Les données doivent être consultables tout au long de leur durée de conservation.	-Faire un audit pendant toute la durée de vie du dossier.

## CHAPITRE II : DATA INTEGRITY

---

### 5. Quelques problèmes relatifs au manquement à la « Data Integrity » [16].

#### Type1 : Falsification [16].

Données analytiques, de production et règlementaires falsifiées :

- Données existantes enregistrées comme étant nouvelles.
- Données fabriquées
- Données manipulées : l'exemple des modifications des aires de pics chromatographiques.
- Origine de la substance active falsifiée.

#### Type2 : Erreurs intentionnelles [16].

- Gestion des formulaires vierges non maîtrisée :
  - Enregistrements réécrits (avec ou sans modification).
  - Formulaires vierges partiellement remplis mis au rebut.
- Données non enregistrées en temps réel.
- Enregistrements antidatés.
- Enregistrements non remplis par la personne ayant réalisée l'action.
- Enregistrements de contrôle ou dossiers de lots de production non disponibles.

#### Type 3 : Mal gestion des systèmes informatisés [16].

- Des systèmes informatisés mal conçus et/ou mal contrôlés :
  - Absence de système de gestion des profils d'utilisateurs : pas d'identifiant ni de mot de passe, Profil partagé, Profil administrateur disponible pour tout le personnel....
  - Absence « d'audit trail » ou « audit trail » inactivé.
- Absence de sauvegarde des données .

# CHAPITRE III

---

DMAICS

# CHAPITRE III : DMAICS

---

Pour répondre aux principes de l'intégrité des données qui est une exigence fondamentale du système qualité pharmaceutique, les industries pharmaceutiques utilisent plusieurs approches de résolution de problèmes dont le DMAICS.

Il s'agit d'une méthode d'amélioration continue particulièrement efficace qui est née de l'augmentation permanente de la complexité des processus et de l'obligation de s'assurer de leur réalisation et de leur qualité.

Le DMAICS permet d'améliorer la productivité et la qualité en déterminant les causes racines des dysfonctionnements et en y remédiant en instaurant des solutions appropriées et durables.

## 1. Définition du DMAICS

Le DMAICS est décrit comme étant un processus structuré de résolution de problèmes récurrents liés aux différentes tâches répétitives, fondé sur les données récoltées [20].

A partir d'un problème identifié, il va être possible au travers de six étapes, en employant un ensemble d'outils adéquats, de cibler ses causes possibles, jusqu'à déterminer exactement sa source. Une fois la source déterminée, des solutions sont proposées puis implémentées dans la durée. [18].

En somme, DMAICS agit comme un filtre qui permet de passer d'un problème complexe comprenant de nombreuses variables non maîtrisées à une situation où la qualité est maîtrisée.

# CHAPITRE III : DMAICS

## 2. Etapes du DMAICS

Le DMAICS est un acronyme de : Définir, Mesurer, Analyser, Améliorer, Contrôler et standardiser ; ces derniers sont les étapes de cette méthode ; est résumé dans la figure ci-après :

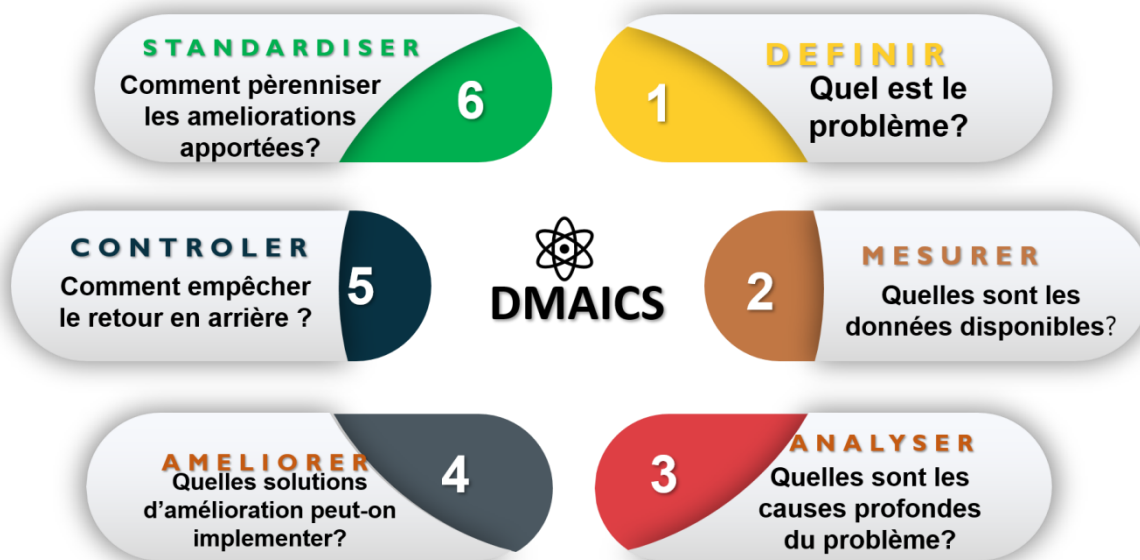


Figure 06 : Schéma représentant les étapes de la DMAICS

### 2.1. Définir

Il s'agit de la première étape de l'approche DMAICS qui consiste à définir le problème, l'identifier et traiter les facteurs et les acteurs influents, de déterminer les écarts entre les performances actuelles et celles souhaitées. Pour mener à bien cette étape la focalisation sur le processus est primordiale [18].

Cette étape fait appel à de nombreux outils dont :

#### 2.1.1. Diagramme de KANO

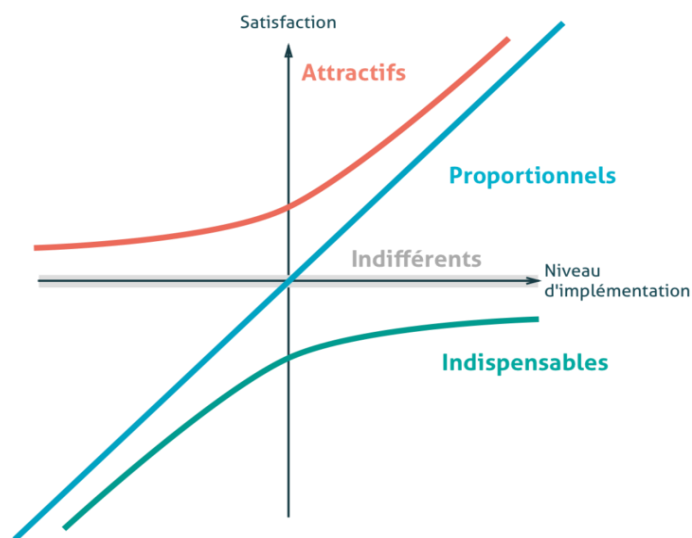
Le diagramme de Kano est une représentation simple de l'évaluation de la satisfaction du client. Il consiste à évaluer l'impact d'une fonctionnalité ou caractéristique d'un produit sur la satisfaction de l'utilisateur [19].

Il est composé de :

- deux axes :
- l'axe vertical représentant le degré de satisfaction du client ;
- l'axe horizontal représentant le degré de réalisation d'une fonction, caractéristique ou prestation.

# CHAPITRE III : DMAICS

- une droite passant par le centre représente la satisfaction proportionnelle à la solution.
- la courbe « basse » représente les attentes explicites des fonctions ; leur accomplissement n'apporte aucune satisfaction en revanche leurs défaillances/absences entraînent une insatisfaction ;
- la courbe haute représente les fonctions non attendues mais qui génèrent une forte satisfaction.



**Figure 07 : Diagramme de KANO [19]**

## 2.1.2. QFD

Le QFD ce que l'on traduit généralement par Déploiement de la Fonction Qualité. QFD est une méthode qui permet de traduire la demande du client dans le langage du concepteur, en d'autres termes le QFD est un outil d'aide à la décision dans la conception de produits ou de services. Elle permet de représenter les caractéristiques et paramètres critiques pour le client (attentes, besoin du marché etc...) de manière à concevoir et à réaliser un produit qui répond précisément à cette demande et ce, sans coûts superflus [20].

## 2.1.3. Méthode du diagramme CTQ

Les CTQ (Critical to Quality) sont les spécifications critiques mesurables définies par le client, ce sont les facteurs clef qui traduisent le besoin du client.

Elles permettent de définir le niveau précis de qualité exigé pour chaque attribut déterminant du produit ou du service [21].

# CHAPITRE III : DMAICS

CTQ a pour objectif de décomposer les exigences des clients en fonction de trois critères: qualité, cout et délai.

La méthode CTQ peut suivre la méthodologie suivante:

- lister les besoins du client.
- pour chaque besoin déterminer les exigences ;
- déterminer les moyens qui permettent de mesurer ces exigences ;
- se fixer un niveau de satisfaction de ces exigences ;
- identifier les exigences critiques pour les clients (ctq) ;
- traitement de ces exigences à partir d'un plan d'action.



Figure 08 : Schéma récapitulatif de la méthode CTQ

# CHAPITRE III : DMAICS

## 2.1.4. QQQQCP

C'est une méthode utilisée pour identifier les aspects d'un problème de façon plus complète, la plus simple et la plus rapide possible et cela en se posant six questions clés : Qui ? Quoi ? Où ? Quand ? Comment ? Pourquoi ?

Cette méthode permet de faciliter la résolution du problème et de sa compréhension, en récupérant toutes les informations nécessaires.

Ces six questions doivent être posées systématiquement afin de n'omettre aucun aspect important [20].



Figure 09 : Schéma récapitulatif de la méthode QQQQCP

# CHAPITRE III : DMAICS

**Tableau V : Tableau récapitulatif de la méthode QQQQCP**

Questions	Exemples
QUOI ? De Quoi s'agit -il ?	Quel est le problème et ses symptômes ? Quelles sont ses conséquences ? Quels sont les éléments qui caractérisent la situation ? (Opérateurs, produits, dysfonctionnement)
QUI ? Les acteurs	Qui est touché par le problème ? Qui sont les acteurs et les responsables (personnes et organisations) ?
OÙ ? Les lieux	À quel endroit se produit le problème ? Dans quel lieu, sur quelle machine ?
QUAND ? Le temps	Quand le problème est-il apparu ? Quelle est sa fréquence, sa durée ?
COMMENT ? Les moyens	Sous quelles conditions le problème apparaît-il ? Sous quelle forme ? Comment mesurer le problème et sa résolution ?
Pourquoi ? Les causes	Quelles sont les causes du problème ? Quels sont les facteurs déclenchants ?

## 2.2. Mesurer

Est la deuxième étape du DMAICS qui nous permet de saisir, collecter et accumuler les données sur les paramètres mesurables du processus afin d'en évaluer sa performance.

Le choix des paramètres de mesure est crucial puisqu'ils seront suivis tout au long de cette démarche ; les mesures doivent donc être fiables [20].

Quelques outils de l'étape mesurer :

### 2.2.1. Feuille de relevé

La feuille de relevé de données est un document structuré permettant de recueillir les informations de manière méthodique et spécifique, cette dernière est un outil de base de gestion de la qualité.

Cette feuille peut être utilisée dans différentes étapes d'une démarche qualité lors de l'analyse d'un dysfonctionnement.

#### 2.2.1.1. Description

Organisation à mettre en œuvre :

- Il faut énumérer toutes les données à recueillir ;
- Il faut définir le cadre et le lieu où s'effectueront ce recueil et la personne responsable de ce dernier ;
- Il faut définir l'échantillon des observations ;
- Il faut informer préalablement les personnes concernées.

# CHAPITRE III : DMAICS

## 2.2.1.2. Objectifs

- Quantifier les caractéristiques du problème.
- Recueil de manière continue et méthodique toutes les informations et données nécessaires, qu'elles soient chiffrées ou non.
- La sauvegarde de ces données [22].

## 2.2.2. Méthode des 5M

Également appelé diagramme d'Ishikawa ou diagramme en arête de poisson, encore appelé diagramme causes-effets ; est un outil utilisé pour identifier, organiser et classer l'ensemble des causes potentielles d'un dysfonctionnement ou d'un problème [20].

Cette méthode repose sur la recherche des causes et effets en se basant sur l'axe des 5M :

**2.2.2.1. Matière** : Tout ce qui est consommable, transformable : matières premières, documents, informations...

**2.2.2.2. Milieu** : Tout ce qui est extérieur à l'effet : environnement de travail, conditions de travail, espace...

**2.2.2.3. Main d'œuvre** : Tout ce qui est lié à une action humaine : comportement, qualification, formation, expérience etc...

**2.2.2.4. Méthode** : Tout ce qui est lié à l'organisation tels que les circuits et procédures, les modes opératoires, les spécifications etc...

**2.2.2.5. Matériel ou Machine** : Tout ce qui nécessite un investissement : équipements, informatique...

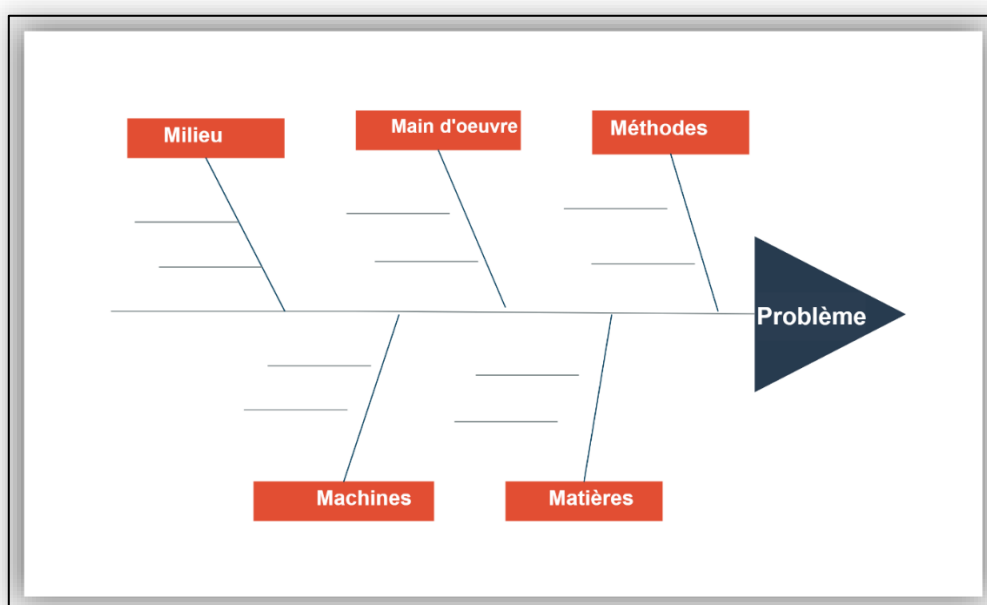


Figure 10 : Schéma représentant le diagramme d'Ishikawa

# CHAPITRE III : DMAICS

## 2.3. Analyse

C'est la Troisième étape de la DMAICS une fois la collecte des données a été faite celles-ci seront analysées et classées, puis éliminées progressivement afin de mettre en évidence les causes racines du problème. Durant cette étape les données sont transposées en solutions statistiques [20].

Dans cette étape on fait appel à différents outils :

### 2.3.1. Statistiques descriptives

La statistique descriptive a pour objectif de donner une description statistique d'un ensemble de données [21].

Il y a deux types paramètres statistiques :

#### ➤ Paramètres de position

**Moyenne :**

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i$$

**Médiane :** la médiane d'un ensemble de valeurs (échantillon, population, distribution de probabilités) est une valeur  $x$  qui permet de couper l'ensemble des valeurs en deux parties égales.

#### ➤ Paramètres de dispersion

Les paramètres d'échelle donnent une idée de la dispersion des mesures [21].

<b>Ecart type</b>	C'est la racine carrée de la moyenne arithmétique des carrés des écarts à la moyenne : $\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - m)^2}{n-1}}$
<b>Variance</b>	$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}$
<b>Etendue</b>	C'est la différence entre la plus grande données et la plus petite

### 2.3.2. Statistique inférentielle

Les statistiques inférentielles sont un élément très important du vaste domaine des statistiques. Elles ont pour objectif de vérifier s'il existe une relation entre les X et les Y, les

# CHAPITRE III : DMAICS

X sont des variables indépendantes (ou facteurs), Y est une variable dépendante (ou réponse), qui dépend de la configuration des X.

Il existe plusieurs tests comme : Les tests de comparaison en fonction des paramètres étudiés [21] :

- méthode de régression : quantifie et prouve la relation entre y et x ;
- khi-carré : détermine la nature d'une répartition ;
- anova (analysis of variance) : compare des groupes multiples (moyennes ou variances, minimum de trois groupes ;
- test-t : compare deux moyennes de groupes indépendants ou de groupes dont les données sont appariées.

### 2.3.3. Méthode des 5P

La méthode des « 5 pourquoi ? » est une technique d'analyse des causes profondes d'un problème. Elle consiste à se poser la question pourquoi au moins cinq fois, cela permet de remonter à la cause première. En posant à plusieurs reprises cette question, les couches de symptômes sont retirées une à une jusqu'à l'identification de la cause racine du problème [20].

Cette méthode permet de mettre en évidence d'autres perspectives qui pouvaient être occultées auparavant cela augmente les chances de cerner les causes du problème.

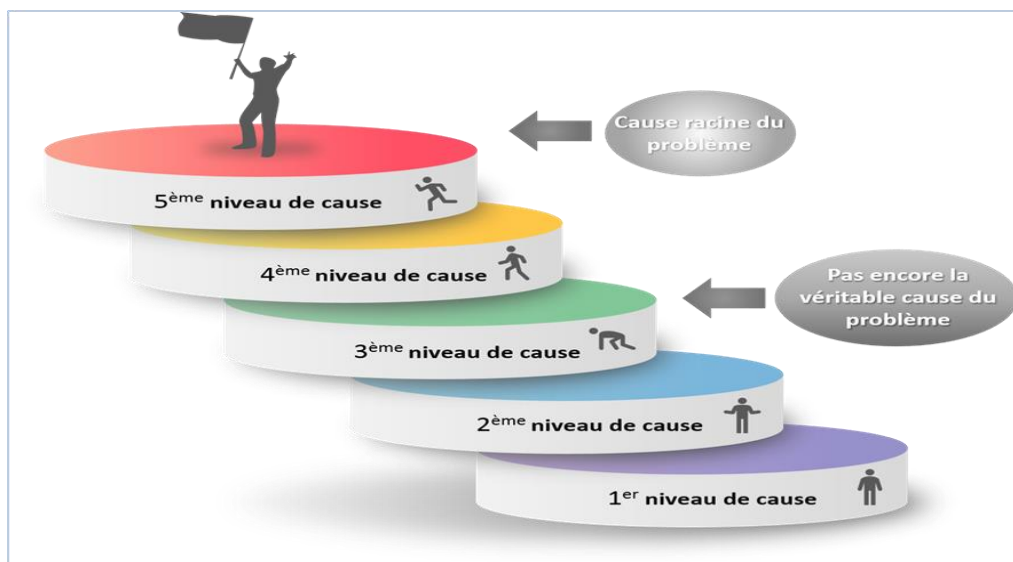


Figure 11 : Schéma récapitulatif de la méthode 5P

# CHAPITRE III : DMAICS

---

## 2.4. Améliorer/Innover

La phase améliorer correspond à l'étape d'amélioration ou d'implémentation de solutions adéquates. Elle consiste à identifier et à mettre en œuvre, des solutions simples et créatives pour éliminer et prévenir les causes racines des problèmes préalablement définis [21].

C'est la phase de génération de solutions ; elle s'appuie sur différents outils dont :

### 2.4.1. Méthode de créativité

#### 2.4.1.1. Brainstorming

Le déballage d'idée (Brainstorming) remue de méninges c'est une méthode participative de la résolution du problème. Elle consiste à former un groupe de travail multidisciplinaire où chaque membre du groupe évoque spontanément les idées qui leurs passent par la tête, la critique sera interdite dans un premier temps, cela permet de récolter des idées nombreuses et originales en mettant de côté les jugements qui peuvent compromettre le but de la séance. Elle est réalisée en sept étapes [22].

- 1- On explique le processus
- 2- On pose les règles
- 3- On commente le problème
- 4- On écrit tout
- 5- On fait le ménage
- 6- Trier regrouper éliminer
- 7- On sélectionne les meilleures idées

#### 2.4.2. Plan d'expérience

Un plan d'expérience est une approche statistique permettant de maîtriser un problème à plusieurs paramètres tout en suivant un programme préconçu des différentes expériences qu'on se doit effectuer. Il a pour but de minimiser le nombre d'essais pour obtenir des résultats fiables qui reflètent la variation réelle du phénomène étudié en fonction de ses diverses caractéristiques.

#### Méthodologie des plans d'expériences

Les plans d'expériences font partie de la chimiométrie. L'objectif poursuivi est de fournir à l'analyste, moyennement un nombre d'expériences restreint, un maximum d'informations pertinentes pouvant expliquer certains effets, informations susceptibles de ne pas être obtenues par la méthodologie classique uni variée. Puisque dans la méthodologie des plans d'expériences, tous les facteurs sont étudiés simultanément, la stratégie consiste à

# CHAPITRE III : DMAICS

---

réaliser les expériences de manière programmée et raisonnée en faisant varier les niveaux de tous les facteurs à la fois tout en utilisant des outils mathématiques combinés aux outils statistiques pour expliquer les phénomènes.

## 2.4.3. Vote pondéré

Le vote pondéré permet d'effectuer un tri parmi les différents éléments qui apparaissent après un déballage d'idées.

Les différentes idées recueillies sont classées en de grands thèmes ou familles puis il est demandé aux participants d'attribuer des points aux idées qui leur semblent efficaces. Le nombre de points à attribuer par personne étant définie par le nombre d'idées à juger divisé par trois, la seule contrainte est de ne pas affecter tous les points à une seule idée [21].

Il existe deux types de vote pondéré

### ➤ Le vote pondéré simple

C'est un vote pondéré mais sans critère spécifique. Il est souvent suffisant si le problème étudié n'est pas complexe. Chaque membre du groupe choisit les causes ou solutions les plus importantes à ses yeux et les classent par ordre d'importance et leurs attribues des points.

On additionne les points de tous les membres, et on retient l'option qui présente le total le plus haut ou bas selon le choix.

### ➤ Le vote pondéré multicritère

Chacune des causes est pondérée en fonction de critères (urgence, fréquence, risque de non détection, gravité des effets ou sur le coût de non-conformité...).

Le groupe se met d'accord sur les critères à retenir.

## 2.5. Contrôler

C'est la cinquième étape du DMAICS, elle intervient juste après la phase d'amélioration ; elle consiste à s'assurer de la stabilité de la situation nouvelle souhaitée après implémentation de la solution trouvée et d'éviter le « retour en arrière » vers la situation précédente insatisfaisante. Elle a pour objectif d'obtenir des résultats proches de la perfection [21].

Afin de maintenir l'amélioration obtenue, différents outils sont utilisés dont :

### 2.5.1. Maîtrise des statistiques des procédés

La maîtrise statistique des procédés est un outil de maîtrise et d'amélioration de la qualité; il permet de recueillir, analyser et interpréter des données à l'aide des outils objectifs pour en tirer des conclusions valables et en dégager des axes d'amélioration.

# CHAPITRE III : DMAICS

---

## 2.5.2. Auto-maitrise

L'automaitrise a pour premier objectif de donner à l'opérateur une maitrise plus importante de son poste de travail. En effet, c'est l'opérateur qui sera responsable : de la bonne tenue du poste de travail ; de la maintenance de premier niveau ; de la surveillance du processus.

## 2.6. Standardiser

C'est la sixième et la dernière étape, l'objectif visé est de pérenniser les progrès accomplis et les améliorations apportées afin de garantir la performance dans la durée du processus [21].

### 2.6.1. Benchmarking

Est un outil qui permet de comparer entre entreprises ou services, utilisée pour évaluer la performance des processus vis-à-vis d'un référent. Cela permet de faire émerger les axes d'amélioration afin de les mettre en œuvre pour améliorer une situation susceptible d'être améliorée.

Cette étude permet ainsi de qualifier le processus, d'en préciser les avantages et les faiblesses et d'agir en conséquent [20].

Elle est réalisée en 7 étapes [22] :

- 1- Que doit-on comparer
- 2- Quelle est la cible
- 3- Quelles mesures
- 4- Collecte d'informations
- 5- Analyse
- 6- Démarche activée
- 7- Relancer un nouveau benchmarking.

### 2.6.2. L'audit trail

L'audit du processus a pour objectif de s'assurer qu'on applique bien les procédures décidées et que les modifications sont effectivement implémentées. Il permet de détecter s'il y a des risques quant à la pérennité de l'action ou si elle va nécessiter un suivi constant. [23].

L'audit trail est un journal d'événements sécurisé, traçant d'une manière horodatée les modifications apportées sur un système, il est généré par le système lui-même. L'objectif de l'audit trail est de pouvoir reconstituer les événements liés à toute création, modification ou suppression d'une donnée critique.

# CHAPITRE III : DMAICS

---

Il est considéré comme une métadonnée car il permet de connaître le quand le qui et le pourquoi d'une modification [20].

---

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**

---

# MATERIEL ET METHODES

---

# MATERIEL ET METHODES

---

Le présent travail pratique a été réalisé au laboratoire de Chimie Analytique du Département de Pharmacie de la Faculté de Médecine de l'Université MAMMARI de Tizi Ouzou.

Durant la validation de la méthode de dosage du furosémide par HPLC au niveau du laboratoire de chimie analytique, différentes insuffisances ont été constatées et qui seraient source d'erreurs et d'imprécision des résultats.

L'erreur majeur rencontrée est celle liée à l'intégration des pics chromatographiques cette dernière fait partie des erreurs classées type1 par la FDA.

Afin de résoudre ce type erreurs, différents outils ont été mis en œuvre à savoir le DMAICS, ce dernier est une méthode de détection, de résolution et d'amélioration continue, permettant de répondre au principe de l'ALCOA<sup>+</sup> exigé par la FDA.

Les produits, l'appareillage ainsi que la verrerie utilisée durant ce travail sont résumés ci-dessous :

## 1. Matériel

### 1.1. Matière première

La matière première utilisée est composée du furosémide comme principe actif et d'un placebo qui sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau VI : Résumé de la matière première utilisée**

Matière première	
Furosémide	Substance de référence fournie gracieusement par le LNCPP
Placebo	Préparé au laboratoire de chimie analytique

# MATERIEL ET METHODES

## 1.2. Réactifs

Les réactifs utilisés durant la pratique sont résumés dans le tableau ci-après :

**Tableau VII : Réactifs utilisés**

Réactifs	Fournisseurs
Hydroxyde de sodium NaOH	Disponible au laboratoire de Chimie Analytique de Tizi Ouzou
Acétonitrile	Disponible au laboratoire de Chimie Analytique de Tizi Ouzou
Acide phosphorique	Disponible au laboratoire de Chimie Analytique de Tizi Ouzou
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Disponible au laboratoire de Chimie Analytique de Tizi Ouzou
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Disponible au laboratoire de Chimie Analytique de Tizi Ouzou
Eau distillée	Disponible au laboratoire de Chimie Analytique de Tizi Ouzou

## 1.3.Appareillage et équipements

Les appareils et équipements utilisés sont résumés dans les tableaux suivants :

**Tableau VIII : Récapitulatifs des appareillages utilisés**

Désignation		Spécification	Usage
HPLC (SHIMADZU LC20)	Contrôleur	SIL 20 A	Dosage (obtention des Chromatogrammes)
	Compartiment de la colonne	CTO-20 A	
	Colonne	C18 (15 cm)	
	Détecteur	Spectrophotomètre UV visible	
	Logiciel D'exploitation	LC-solution	
	Dégazeur		
Distillateur		Lab-Tech	Eau distillée
Pompe à vide			Filtration de la phase mobile
Sonicateur		Advantage-LAB	Solubilisation
Agitateurs magnétiques		NAHITA ModeL690-1	Homogénéisation des Solutions
Balance analytique		KEREN	Pesé
pH-mètre		METLER TOLEDO	Préparation des tampons
Etuve			Sécher les fioles

# MATERIEL ET METHODES

## 1.4. Verreries et autres

La verrerie utilisée est résumée dans le tableau ci-après :

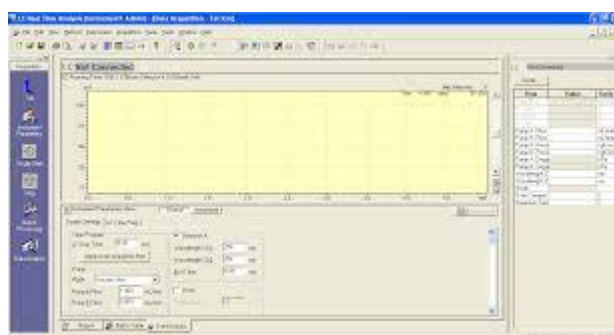
**Tableau IX : Verreries et autres matériels utilisés**

Verreries	Autres
-Fioles jaugées 50ml, 100ml, 200ml, 1000ml, 2000ml -Béchers -Eprouvettes : 1000 ml -Pipettes jaugées : 20ml -Pipettes jaugées : 5ml -Entonnoirs -Viales	-Poires -Pissettes -Spatules -Papier aluminium -Des flacons pour phase mobile -Bavettes -Barreau magnétique

## 1.5. Conditions chromatographiques

- La phase mobile : Mélange acetonitrile, Tampon phosphaté avec un pH de 5.01, (25% /75%) (V/V)
- Le débit : 0.8 ml/s
- La colonne : C18 (150mm × d 4.5mm), le diamètre des particules est de 5µm
- Volume d'injection : est de 20 µL
- Mode d'analyse : isocratique
- Longueur d'onde : 270 nm

## 1.6. Logiciel d'intégration : LC système



**Figure12 : Image du logiciel LC system de la HPLC.**

## 2. Méthodes

Data integrity est une approche de perfectionnement, qui exige que les données soient : attribuables, lisibles, contemporaines originales et précises. Afin d'appliquer le principe ALCOA<sup>+</sup>, la suppression des erreurs majeures et des problèmes mineures pouvant

# MATERIEL ET METHODES

---

interférer avec ce principe est nécessaire et pour ce faire on a recours à différentes méthodes dont le DMAICS, utilisé afin de cibler les causes possibles et les résoudre.

Dans le but de détecter les anomalies constatées sur le profil d'exactitude les étapes du DMAICS ont été appliquées chacune de ces étapes fait appel à de nombreux outils, dans le cadre de notre travail les outils que nous avons utilisés pour chaque étape sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau X : Résumé des outils utilisés pour chaque étape de la DMAICS.**

Méthode	Outil
Définir	-QQOQCP
Mesurer	-Feuille de relevé -Méthodes des 5M
Analyser	-Méthode des 5P
Amélioration	-Brainstorming -Vote pondéré
Contrôler	-Audit trail
Standardiser	

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

## 1. Résultats obtenus lors de la validation d'une méthode de dosage du furosémide

### 1.1. Résultats de validation

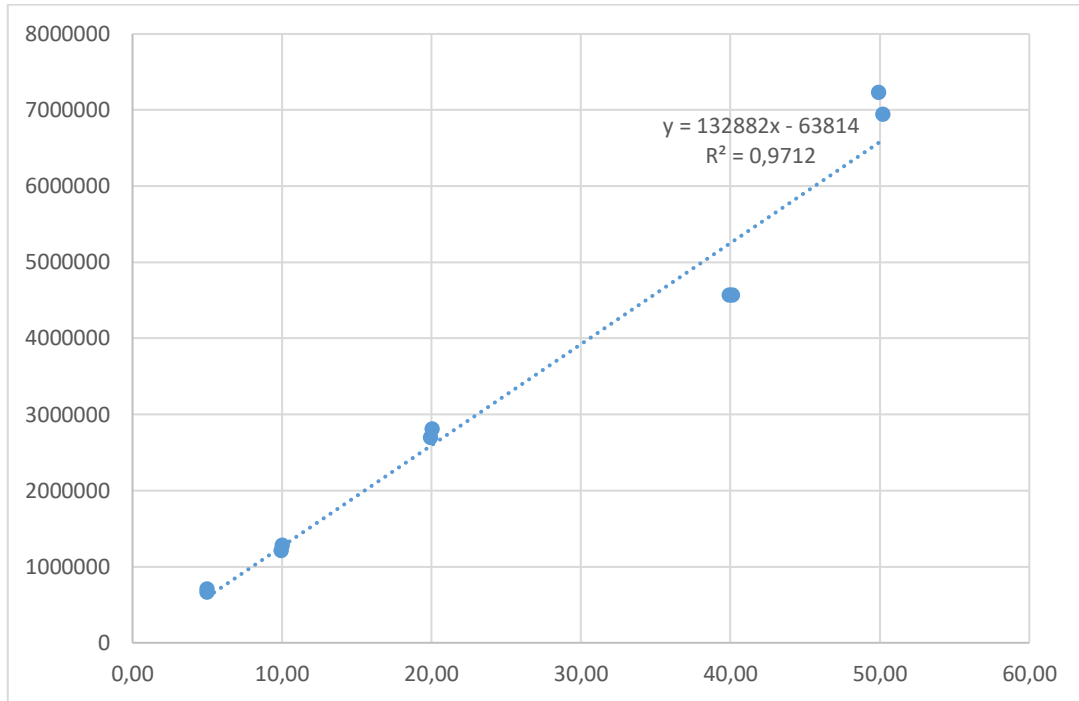
#### 1.1.1. Standard d'étalonnage

Les résultats obtenus pour trois séries d'étalonnage ont été résumés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau XI : Standard d'étalonnage non valide**

Séries (Jours)					
1		2		3	
Concentrations des standards d'étalonnage	Mesurages (Réponses instrumentales)	Concentrations des standards d'étalonnage	Mesurages (Réponses instrumentales)	Concentrations des standards d'étalonnage	Mesurages (Réponses instrumentales)
4,99	701696	5,02	686827	5,00	673049
5,02	661005	5,02	677393	5,02	688406
9,99	1204588	10,04	1150615	10,00	1302119
10,04	1274670	10,03	1281674	10,04	1269562
19,98	2690009	20,09	2688325	20,01	2598981
20,09	2802304	20,06	2823134	20,09	2445862
39,95	4567186	40,18	4405012	40,02	4659896
40,18	4562807	40,13	4416755	40,18	4461873
49,94	7228087	50,22	6908325	50,02	6929336
50,22	6943121	50,16	7153487	50,22	6929475
Pente : 132881,8445		130349,7935		130433,9814	
Variance : 77978910,55		77565593,57		77992258,7	
Ecart type : 8830,566831		8807,133107		8831,322591	

# RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 13 : Fonction de réponse du standard d'étalonnage (non valide)**

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

## 1.1.2. Standard de validation

**Tableau XII : Standard de validation non valide**

Niveaux	Niveaux %	Répétitions	Séries (Jours)					
			1		2		3	
			Concentrations des échantillons de validation	Mesurages (Réponses instrumentales)	Concentrations des échantillons de validation	Mesurages (Réponses instrumentales)	Concentrations des échantillons de validation	Mesurages (Réponses instrumentales)
1	5mg/100 ml	1	5,01	778134	5,02	738913	5,02	756985
		2	5,00	755617	5,00	737000	4,99	0
		3	4,99	757777	5,01	0	4,99	749510
2	10mg/100 ml	1	10,02	1266941	10,04	0	10,04	1306478
		2	10,00	1359828	10,01	1272851	9,98	0
		3	9,98	1322857	10,01	1267738	9,98	1237857
3	20mg/100 ml	1	20,05	2698643	20,07	2679116	20,08	2648707
		2	19,99	2545719	20,02	2610928	19,97	0
		3	19,97	2474776	20,02	2526245	19,97	2502229
4	40mg/100 ml	1	40,10	5055901	40,14	5395727	40,16	4997848
		2	39,98	4999645	40,03	5297577	39,94	4870930
		3	39,94	5059489	40,05	5334964	39,94	4964994
5	50mg/100 ml	1	50,12	6552508	50,18	6539750	50,20	6519959
		2	49,98	6601999	50,04	6671151	49,92	6632991
		3	49,92	6586977	50,06	6591196	49,92	6720392
Pente			128114,4292		131863,3244		128380,125	
Variance			95148041,97		106375051,7		98439527,84	
Erreur pente			353,4627888		10313,82818		9921,669609	

## 1.1.3. Profil d'exactitude

**Tableau XIII : Profil d'exactitude non valide**

	5	10	20	40	50
Biais (%)	24,13	3,23	0,72	-1,53	1,51
Limite intervalle tolérance basse	22,33	-1,49	-4,81	-2,99	-0,70
Limite intervalle tolérance haute	25,93	7,94	6,24	-0,08	3,73
Limite d'acceptation basse	-5,00	-5,00	-5,00	-5,00	-5,00
Limite d'acceptation haute	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

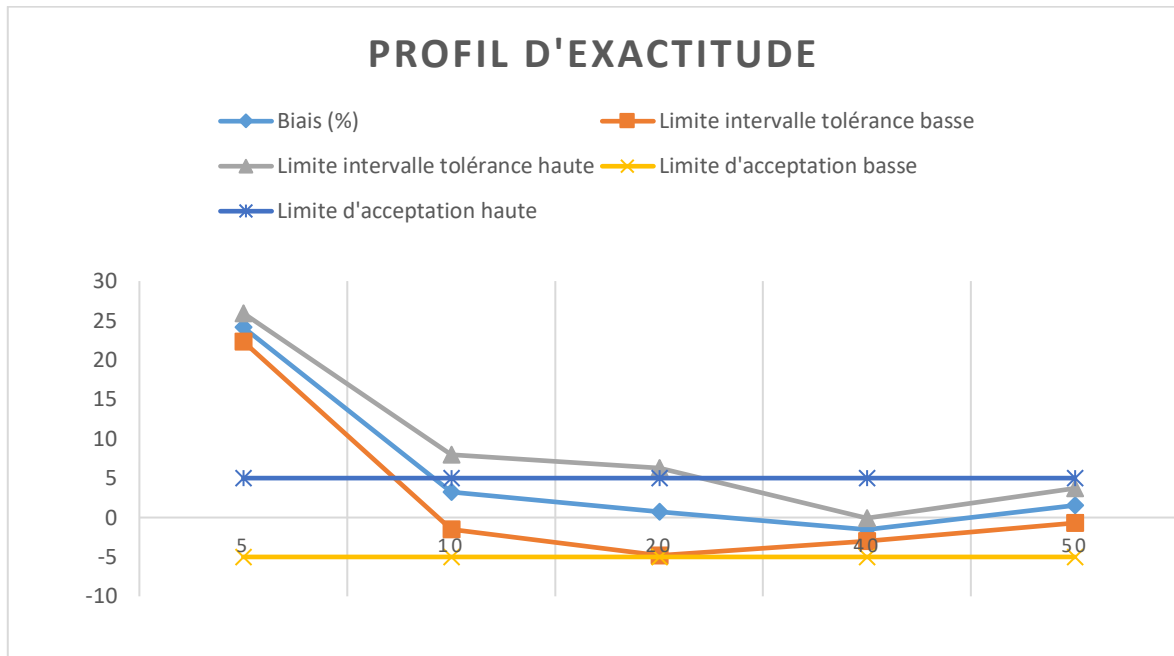


Figure 14 : Représentation graphique du profil d'exactitude non valide

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

## 2. Discussion des premiers résultats

Nous avons remarqué que :

- l'erreurs systématique est supérieure à 4%, par conséquent la méthode n'est pas juste ;
- l'erreur aléatoire sort de l'intervalle de 3%, par conséquent la méthode n'est pas fidèle ;
- l'erreur totale n'est pas comprise dans l'intervalle de  $\pm 5\%$  pour trois niveaux de concentration : 12.5%,25%,50%, par conséquent la méthode de dosage n'est pas valide.

On juge que notre méthode n'est pas valide, pour y remédier nous avons utilisé le DMAICS qui est la principale méthode du projet six sigma.

## 3. Application de la méthode DMAICS

Il va être possible à travers de ces six étapes de la méthode DMAICS de cibler les causes possibles ainsi que la détermination exacte de la source de ces problèmes, toute en utilisant les différents outils de chaque étape citée préalablement dans le Tableau X.

### 3.1.Définir

Nous avons établi une synthèse de toutes les données connues qui permettra d'identifier plus facilement les différents acteurs et facteurs pouvant influencer sur ses performances.

Dans le cadre de notre travail nous avons utilisé la méthode QQQCP pour apporter des éléments de réponse.

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

## 3.1.1. QQQQCP

### ✓ Réalisation

L'application de la méthode QQQQCP couplé à le DMAICS est détaillée dans le tableau suivant :

**Tableau XIV : Application de la méthode QQQQCP**

	Qui ?	Quoi ?	Où ?	Quand ?	Comment ?	Pourquoi ?
Définir	Les internes en pharmacie .	Dosage des solutions du furosémide par HPLC et lors de l'intégration des pics chromatographiques des valeurs aberrantes ont été détectées pour les niveaux 12.5, 25 et 50%.	Au niveau du laboratoire de chimie analytique de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou.	Durant la réalisation de la pratique d'une durée totale de 2 mois au niveau du laboratoire de chimie analytique dans le but d'obtention du diplôme en pharmacie durant l'année 2019/2020	Préparation des solutions du furosémide de différentes concentrations (12.5%,25% ,50 %,100% et 125%) ont été dosées par HPLC dans les mêmes conditions opératoires. Trois séries ont été réalisées en trois jours consécutifs.	Cela est dû soit: -Erreurs de manipulation -Changements des paramètres expérimentaux à savoir la température, -le mode d'intégration des pics chromatographiques.

## 3.2.Mesurer

Nous avons déterminé l'origine précise du problème et obtenu des données fiables sur lesquelles se base le reste de l'étude DMAICS, et plus particulièrement l'analyse au cours de la phase suivante. L'objectif principal consiste à recueillir des données et pour se faire on a fait appel à deux outils efficaces qui sont : la feuille de relevé et le diagramme d'ISHIKAWA.

### 3.2.1.Feuille de relevé

#### ✓ Réalisation

Pour mettre en place une feuille de relevé des données, il faut d'abord commencer par définir tous les critères nécessaires à l'élaboration de cette feuille dans le cas de notre travail sont les suivants :

- données à relever : les aires de pics chromatographiques, les temps de retentions, la température, le temps d'analyse, les pesées etc ;
- la périodicité du relevé : heure, jour, roulement des manipulateurs ;

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

- les personnes en charges du relevé : les internes en pharmacie. en assistance des responsables du laboratoire de chimie analytique ;
- une grille dans le but synthétiser ces informations et de les simplifier a été effectuée, cette dernière se trouve en annexe (03).

## 3.2.2. Méthode des 5 M

### ✓ Description et réalisation

Commencer par exposer le problème rencontré à tous les participants, puis procéder à la construction du diagramme.

Mettre dans un cadre à droite, le problème rencontré = tête du poisson. Tracer une flèche horizontale (arrête centrale) allant jusqu'à l'encadrement du problème.

-De cette arrête centrale, faire partir les 5 grandes familles (arrêtes du poisson) que sont la Main-d'œuvre, les machines, les matières, les méthodes et le milieu.

Dans le cadre de notre travail les causes du diagramme d'Ishikawa couplé à la méthode DMAICS sont détaillées dans le tableau suivant :

**Tableau XV : Méthode des 5M couplée au DMAICS**

Problème : Défaut d'Intégration des pics chromatographiques.				
Matière	Méthode	Milieu	Matériel (Machine)	Mains-d'œuvre
-MP mal-conservée et sous-estimation de la qualité de la matière première -instabilité des solutions. - Qualité de la phase mobile.	- Intégration semi-automatique des pics.	L'enceinte n'est pas adéquate par apport à un tel appareil sophistiqué HPLC, due à l'absence des isolateurs. -Température du laboratoire non constante par l'absence de climatisation -Humidité.	-Problème de pompage -Problème d'injection. -Saturation de la colonne. -problème au niveau de la détection -présence de bulles d'air. -Absence de mise à jour du logiciel d'intégration.	-Non-respect des bonnes pratiques du laboratoire. -Erreurs de manipulation. -Manque de formations.

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

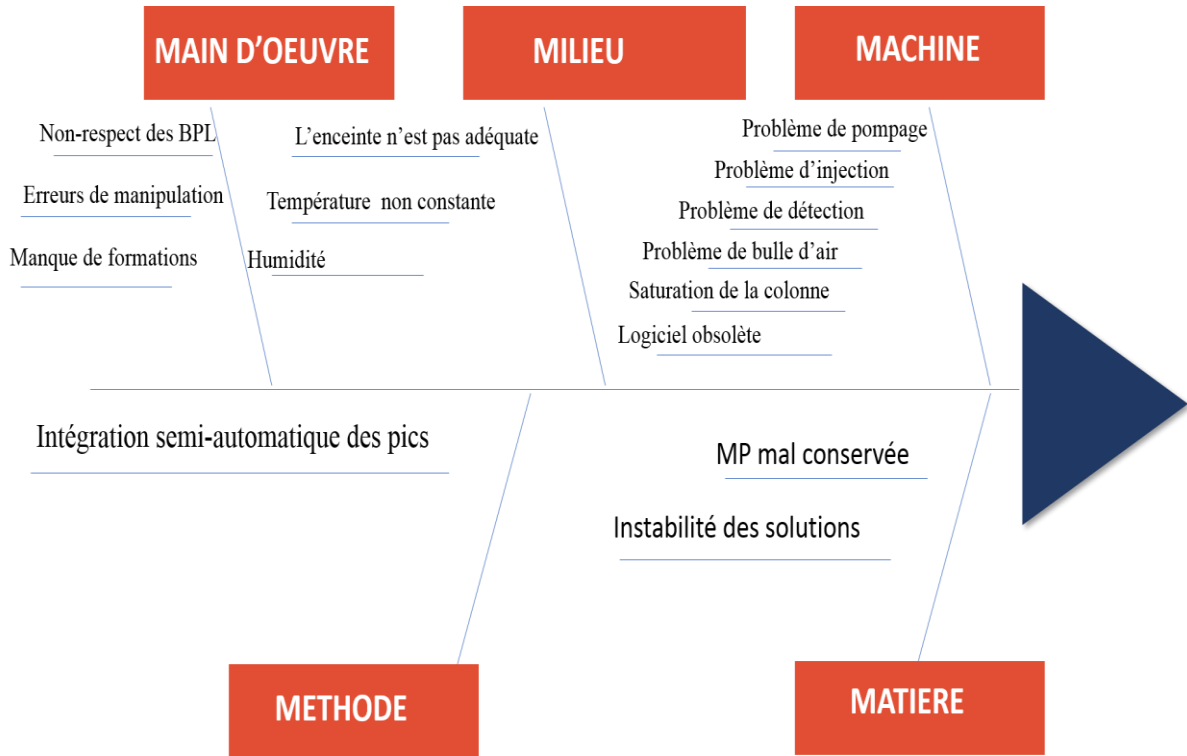


Figure 15 : schéma représentant l'application du diagramme d'Ishikawa

### 3.3. Analyse

Après avoir recueilli les données au cours de l'étape mesurer ces dernières seront analysées pour mieux cerner la/ les sources du problème. Durant cette étape nous avons fait appel à la méthode des 5 pourquoi

#### 3.3.1. Méthode des 5P

##### ✓ Réalisation

Pour commencer, il faut énoncer clairement le problème. Répondre avec la question pourquoi au problème posé, avec des données observées. Cette réponse devient un nouveau problème auquel il faut trouver une solution. Répéter cette opération en apportant à chaque fois une solution à la réponse donnée.

L'application de la méthode 5P à notre travail a été faite comme suit :

- ❖ **Problématique** : « Après avoir inséré des résultats sur la feuille de calcul et avoir tracé les profils d'exactitude, des valeurs aberrantes pour les niveaux 12.5%, 25% et 50% ont été constatées, par conséquent l'erreur totale correspondante n'est pas incluse dans l'intervalle d'acceptabilité fixée pour le produit fini qui est de  $\pm 5\%$  donc les résultats de ces niveaux ne sont pas valides ».

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

## → Pourquoi le constat de ces valeurs aberrantes pour le 12.5%, 25%,50% ?

- ❖ Le constat des valeurs aberrantes pour les niveaux 12.5%,25% ,50% s'explique par : l'obtention des aires de pic de zéro pour quelques répétitions de la deuxième et troisième série.

## → Pourquoi l'obtention des aires de pic nulles pour quelques répétitions de la deuxième et troisième série ?

- ❖ L'obtention des aires de pic nulles pour quelques répétitions des niveaux de concentration cités ci-dessus, se justifie par la non prise en considération des chromatogrammes obtenus, par le système d'intégration semi-automatique.

## → Pourquoi la non prise en considération de ces chromatogrammes par le système d'intégration ?

- ❖ La non prise en considération des chromatogrammes pour certaines répétitions, par le système d'intégration semi-automatique est due à une variation du temps de rétention par ces dernières.

## → Pourquoi la variation du temps de rétention pour ces niveaux de concentrations (cités préalablement) ?

- ❖ La variation du temps de rétention pour certaine répétition s'explique par des conditions environnementales notamment la variation de la température extérieure, après avoir éliminé tous autres facteurs (erreurs de manipulation, manque de formation, manque de maintenance...).
- ❖ Pour ce mode d'intégration, le premier chromatogramme est intégré manuellement tout en fixant les paramètres d'intégration à savoir l'intervalle du temps de rétention, par la suite l'intégration se fera d'une manière automatique, par conséquent certains chromatogrammes possédant un temps de rétention varié sont exclus d'où l'obtention de ces aires de pic de valeurs nulles.

## → Pourquoi l'utilisation de ce mode d'intégration et quelles sont les Solutions ?

- ❖ L'utilisation du système d'intégration semi-automatique demeure le meilleur choix actuel au laboratoire de chimie analytique de Tizi-Ouzou vu sa simplicité et rapidité en revanche ce dernier manque d'objectivité et de précision.

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

- ❖ Par conséquent un logiciel plus performant est recommandé dans le but de l'obtention des résultats plus précis et fiables en se basant sur l'intégration automatique objective.
- ❖ La mise en place des isolateurs est nécessaire au niveau de l'enceinte afin d'éviter toute variation des conditions extérieurs pouvant influencer les résultats.

## 3.4. Améliorer

À ce stade, la source du problème a normalement été clairement identifiée, cette étape consiste en effet à trouver des solutions en mesure de régler les ou le problème,

Afin d'apporter des solutions au problème qui a été défini et mesuré préalablement on a procédé un brainstorming durant lequel un maximum de solutions a été proposées puis un vote pondéré pour sélectionner la meilleure d'entre elles.

### 3.4.1. Brainstorming

#### ✓ Réalisation – Organisation

Le brainstorming s'est organisé autour de notre promoteur Pr MAMOU et Co-promotrice Dr AKLI, qui a réuni les internes en pharmacie dans le but de noter sur un support (tableau) toutes les propositions d'idées liées à la question posée.

La séance de brainstorming s'est faite au laboratoire de chimie analytique et a duré 1heure.

La séance du brainstorming s'est déroulée comme suite :

- rassemblement des participants ;
- instauration des règles du déroulement de la séance ;
- exposition de la problématique ;
- recueil des causes probable de la problématique ;
- établir un balayage des causes et retenir les plus pertinentes ;
- proposition des solutions possibles ;

Le PV de la séance de brainstorming qui se trouve en annexe (04).

### 3.4.2. Vote pondéré

Technique de sélection finale du problème que le groupe souhaite résoudre en premier. (Technique de présélection des problèmes à traiter suite à une séance de brainstorming).

- Dans le cadre de notre travail, après la clôture de la séance de brainstorming un vote pondéré simplifié s'est effectué, les résultats de ces derniers sont résumés comme suit :

- La cause la plus probable retenue est la suivante :

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

« Variation des temps de rétentions des différents échantillons du même standard due à la variation de la température de l'environnement. »

- La solution retenue par la majorité est la suivante :

« Procédé à une intégration automatique et la mise en place d'un logiciel adéquat. »

D'autres solutions ont été proposées et que la majorité des présents ont jugé nécessaire aussi de prendre en considération sont les suivantes :

- mettre en place un audit trail afin de contrôler toutes activités au sein de l'hplc ;
- sécuriser l'accès à l'HPLC et surtout à l'intégration cela par la création des identifiant sécurisés ;
- équipement de la salle HPLC ainsi que tout le laboratoire avec des isolateurs et climatiseurs afin de maîtriser de toute variation des conditions externes.

## 3.5. Contrôle

Nous avons défini un plan de contrôle de la solution établie à partir d'indicateurs pertinents. L'objectif consiste à garantir la pérennité de chaque solution mise en place tout en évitant une baisse de performances.

### 3.5.1. Audit trail

Nous avons effectué un audit trail pour notre travail, constituer de six parties qui se présentent sous forme d'un registre chronologique de l'ensemble d'enregistrement qui forme des preuves documentaires des différentes activités effectuées durant la procédure d'intégrations des pics chromatogrammes. L'audit a été appliqué sur les parties de la HPLC suivantes :

Réservoir, pompe, injecteur, colonne, détecteur et le système, ce dernier se trouve en annexe (05).

## 4. Discussions des résultats obtenus après avoir appliqué le DMAICS

D'abord identification du problème après avoir utilisé la méthode QQQCP, nous avons pu définir le problème qui se résume en un défaut d'intégration des pics chromatographiques et cela après avoir éliminé les restes des autres anomalies.

### 4.1. Mesure du problème

Après avoir utilisé le diagramme d'ISHIKAWA et la feuille de relevé.

Dans le diagramme, d'Ishikawa nous avons mesuré le problème, et l'utilisation de la feuille de relevé nous a permis en présence des résidents en chimie analytique de structurer les différentes anomalies qui peuvent être en cause de cette non validation.

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

## 4.2. Analyse le problème

La méthode des 5P nous a permis à mieux cerner le problème après avoir sélectionné trois problèmes en utilisant la feuille de relevé, ces derniers sont les suivants :

- erreurs de manipulation que nous avons pu éliminer par une intégration manuelle, après l'obtention des aires de pics proches de ceux obtenus avec une intégration semi-automatique comparant avec les autres échantillons ;
- la variation des paramètres expérimentaux externes à savoir la température de l'enceinte, cela s'explique par le manque de sophistication de cette dernière ;
- le mode d'intégration semi-automatique est le meilleur mode d'intégration actuelle disponible dans le laboratoire de chimie analytique de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou vu sa simplicité et sa rapidité bien qu'il manque d'objectivité, de sensibilité et de précision. d'où l'intérêt d'instaurer un logiciel assez performant et d'une meilleure objectivité.

Selon la méthode des 5P on cerne le problème, qui est celui de l'intégration des pics chromatographiques tout en reliant le manque de sophistication et de moyens au laboratoire de chimie analytique qui est à l'origine de la variation des paramètres environnementaux qui peuvent influencer de près ou de loin la fiabilité des résultats.

## 4.3. Innovation

Après avoir cerné le problème des solutions doivent être proposées, par nous les internes en pharmacie en assistances des promoteurs.

Une séance de brainstorming a été tenue et un vote pondéré a été effectué afin de sélectionner les meilleures idées qui nous permettraient de résoudre le problème.

Selon le PV du brainstorming et le résultat du vote pondéré, 99% des participants ont voté les deux solutions suivantes :

- instauration d'un logiciel performant et sophistiqué se basant sur l'intégration automatique ;
- amélioration des conditions du laboratoire de chimie analytique en installant des isolateurs qui permettraient le maintien des conditions externes stables.

## 4.4. Contrôler et standardiser

Dans le but du contrôle et d'amélioration continue, un audit trail a été mis en place dans afin de répondre aux exigences du principe ALCOA<sup>+</sup> qui veille à toute modification ou falsification de données.

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

## 5. Données de validation après application du DMAICS

Après avoir appliqué le DMAICS selon les moyens disponibles trois séries de validation ont été préparées en trois jours consécutifs, les données brutes ont été insérées dans la feuilles de calculs, les résultats obtenus sont représentés ci-dessous :

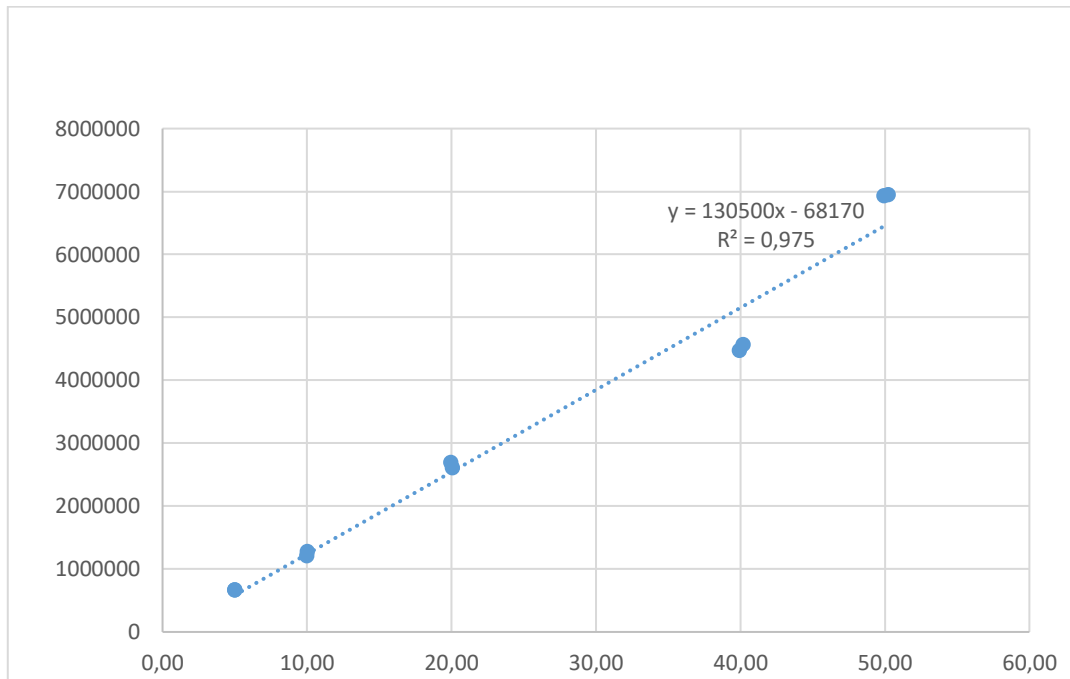
### 5.1. Standard d'étalonnage après application du DMAICS

**Tableau XVI : Standard d'étalonnage après application de la méthode DMAICS**

Niveaux	Niveaux en %	Répétitions	Séries (Jours)					
			1		2		3	
			Concentrations des échantillons d'étalonnage	Mesurages (Réponses instrumentales)	Concentrations des échantillons d'étalonnage	Mesurages (Réponses instrumentales)	Concentrations des échantillons d'étalonnage	Mesurages (Réponses instrumentales)
1	5%	1	4,99	661696	5,02	676827	5,00	673049
		2	5,02	661005	5,02	677393	5,02	678406
2	30%	1	9,99	1204588	10,04	1150615	10,00	1202119
		2	10,04	1274670	10,03	1181674	10,04	1269562
3	55%	1	19,98	2690009	20,09	2688325	20,01	2598981
		2	20,09	2602304	20,06	2623134	20,09	2545862
4	80%	1	39,95	4467186	40,18	4405012	40,02	4459896
		2	40,18	4562807	40,13	4416755	40,18	4461873
5	105%	1	49,94	6928087	50,22	6908325	50,02	6929336
		2	50,22	6943121	50,16	6953487	50,22	6929475
Pente			130499,8772		129588,9973		129842,6903	
Ord. L'origine			-68169,62481		-83881,1883		-79001,91975	

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

---



**Figure 16 : Fonction de réponse d'étalonnage après application de la méthode DMAICS**

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

## 5.2. Standard de validation après application de la méthode DMAICS

**Tableau XVII : Standard de Validation après application de la méthode DMAICS.**

Séries (Jours)					
1		2		3	
Concentrations des échantillons de validation	Mesurages (Réponses instrumentales)	Concentrations des échantillons de validation	Mesurages (Réponses instrumentales)	Concentrations des échantillons de validation	Mesurages (Réponses instrumentales)
5,01	558134	5,02	558913	5,02	556985
5,00	545617	5,00	557000	4,99	551167
4,99	557777	5,01	554462	4,99	559510
10,02	1266941	10,04	1292280	10,04	1206478
10,00	1259828	10,01	1272851	9,98	1207871
9,98	1222857	10,01	1267738	9,98	1237857
20,05	2598643	20,07	2579116	20,08	2548707
19,99	2545719	20,02	2510928	19,97	2553037
19,97	2474776	20,02	2526245	19,97	2502229
40,10	5055901	40,14	5095727	40,16	4997848
39,98	4999645	40,03	5097577	39,94	4970930
39,94	5059489	40,05	5034964	39,94	4964994
50,12	6552508	50,18	6539750	50,20	6519959
49,98	6601999	50,04	6571151	49,92	6532991
49,92	6586977	50,06	6591196	49,92	6520392
Pente : 131691,151		131308,7549		130448,6631	
Variance : 140032727,5		139451835,4		137732030,9	
Ecart type : 353,4627888		11808,97267		11735,92906	

## 5.3. Profil d'exactitude après application de la méthode DMAICS

**Tableau XVIII : Profil d'exactitude après application de la méthode DMAICS**

	5	10	20	40	50
Biais (%)	-2,74	1,89	0,51	-1,83	2,01
Limite intervalle tolérance basse	-4,23	-0,93	-2,63	-2,89	0,99
Limite intervalle tolérance haute	-1,26	4,71	3,65	-0,77	3,03
Limite d'acceptation basse	-5,00	-5,00	-5,00	-5,00	-5,00
Limite d'acceptation haute	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

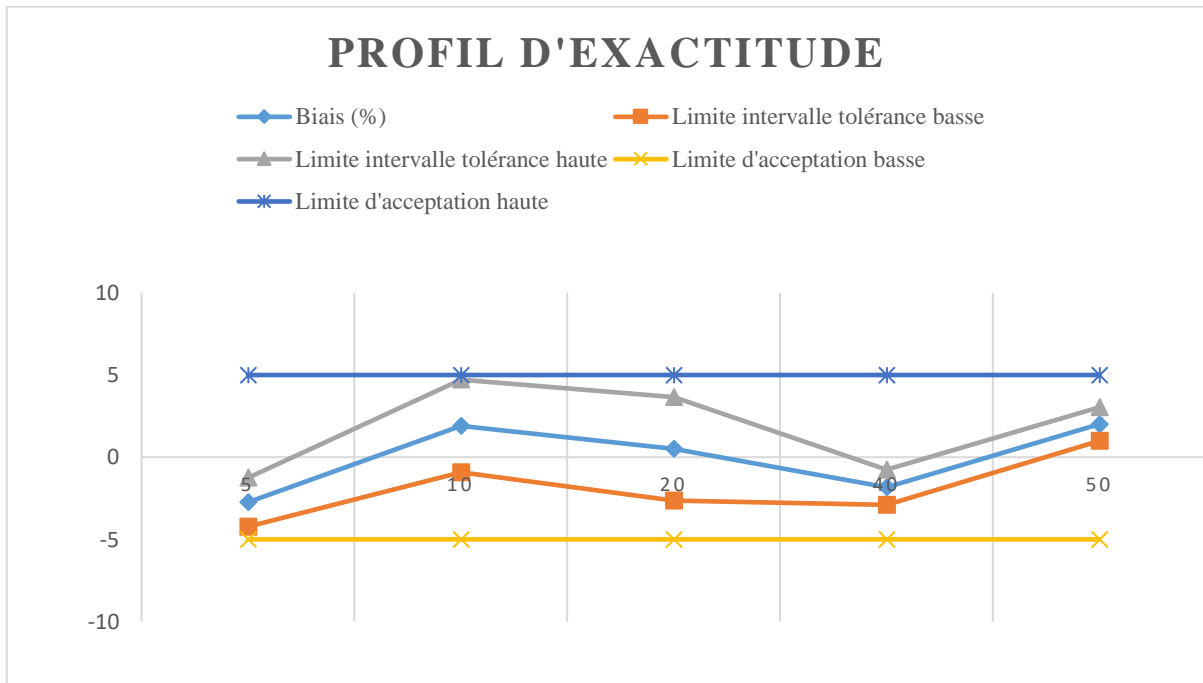


Figure 17 : Profil d'exactitude obtenu après application de la DMAICS

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

Après avoir appliqué la méthode DMAICS et après avoir cerné le problème majeur en cause des résultats non valides, et après une prise en considération des solutions proposées selon les moyens disponibles, un Protocol dans le but de valider a été refait selon le même Protocol suivis précédemment et les résultats obtenus se présentent comme suit :

- l'erreur systématique : biais est  $< 1.5\%$  on dit que la méthode est juste ;
- l'erreur aléatoire : coefficient de variation est  $< 1.8\%$  on dit que la méthode est fidèle ;
- l'erreur totale estimée : est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité du produit fini qui est de  $\pm 5\%$ , on dit que la méthode est exacte.

Nous avons constaté à partir du profil d'exactitude obtenu que le biais est compris dans l'intervalle de tolérance et que le tout est compris dans l'intervalle d'acceptabilité du produit fini qui est de  $\pm 5\%$ , on dit que la méthode est valide selon l'intervalle de dosage variant de 5 mg à 50.01 mg.

Cette validation analytique, de la méthode de dosage du furosémide permet l'obtention des résultats fiables, cohérents et valides répondant au principe de l'ALCOA<sup>+</sup> exigeant que les données soient : Attribuables, Lisibles, contemporaines, originales et précises. Ce qui correspond au principe général de la data integrity.

# CONCLUSION

---

La qualité a pris une importance considérable au cours de l'histoire de l'industrie, à tel point que les des outils spécifiques ont été créés pour permettre son management et son amélioration continue.

Plusieurs approches de managements ont vu le jour ces dernières décennies dont la DATA INTEGRITY, qui est une approche de management qui repose sur le principe ALCOA et ALCOA+, qui exige que les données soient « attribuables, lisibles, contemporaine, originales, précises, complètes cohérentes, durables et disponibles ».

L'objectif de notre travail était de nous assurer que cette approche de management a été appliquée durant l'un des travaux effectués au niveau du laboratoire de chimie analytique de la faculté de médecine de TIZI OUZOU, qui est la validation de la méthode de dosage du furosémide par HPLC.

Afin de détecter, de résoudre et d'apporter une solution durable et une amélioration continue, nous avons appliqué la méthode DMAICS.

La définition du problème s'est faite par le biais de la méthode « qui, quoi, ou, quand, comment et pourquoi », nous a permis de définir le problème qui se résume en un défaut d'intégration des pics chromatographiques et cela après avoir éliminé les erreurs liées à la manipulation .Puis la mesure de ce dernier en utilisant les deux outils suivants : diagramme d'ISHIKAWA et la feuille de relevé ont permis d'avoir une idée globale sur les causes probables, ensuite on a procédé à l'analyse du problème par la méthode des cinq pourquoi qui consiste à poser la question « pourquoi » cinq fois de suite dans le but de mieux cibler les causes racines. Afin de remédier au problème rencontré, durant l'étape d'amélioration un brainstorming et un vote pondéré ont été effectués et la solution adoptée par la majorité des participants est la suivante : «l'instauration d'un logiciel assai sophistiqué et performant se basant sur l'intégration automatique des pics chromatographiques pour les analyses pas HPLC».

D'autres solutions ont été proposées dans le but de l'amélioration continue sont les suivantes :

- mettre en place un audit trail afin de contrôler toutes activités au sein de l'HPLC ;
- sécuriser l'accès à l'HPLC et surtout à l'intégration cela par la création des identifiant sécurisés ;
- équipement de la salle HPLC ainsi que tout le laboratoire avec des isolateurs et des climatiseurs afin de maîtriser toutes variations des conditions externes.

Dans le but de contrôler, de standardiser et d'assurer une amélioration continue un audit trail a été proposé, ce dernier est subdivisé en six parties distinctes abordant les différents compartiments de l'HPLC à savoir : réservoir, pompe, injecteur, colonne, détecteur et le système.

# CONCLUSION

---

Un protocole a été établi en prenant en considération les solutions adoptées dans la mesure du possible, et des résultats valides ont été obtenus.

Nous concluons que la méthode de dosage du furosémide par HPLC selon le protocole SFSTP 2006 est valide. Cette dernière nous permet d'avoir des résultats précis, fiables et exactes répondant au principe ALCOA<sup>+</sup>.

# PERSPECTIVES

---

A l'issu de notre travail et compte tenu de nos conclusions, des perspectives peuvent être envisagées tel que :

- mettre en place un logiciel adéquat qui permettrait une intégration automatique des pics chromatographiques pour les analyses par HPLC ;

- valider toute méthode de dosage avant son application en routine en faisant impliquer la data integrity dans l'analyse et l'exploitation des données ;

- réaliser un audit trail pour tout le laboratoire ;

- réaliser des feuilles de relevé pour l'ensemble des équipements du laboratoire de chimie analytique ;

- sécurisation de tout accès à l'HPLC surtout à l'intégration des pics chromatographique par la création des identifiants personnelle.

# BIBLIOGRAPHIE

---

[1]: BUISINE, Laurent. *La Qualité Et Son Management En Industrie Pharmaceutique : S'imposer Un Cadre Restrictif Ou Plutôt S'ouvrir A De Nouveaux Horizons ?* [en ligne] Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, UNIVERSITE DE LORRAINE, 2018, 87p. format PDF. Disponible sur : < <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01731751/document> > (consulté le 25/02/2020).

[2]: A3P. *Data Integrity : vers la mise en place d'un Data Management.* [en ligne] .Disponible sur : <<https://www.a3p.org/data-integrity-vers-la-mise-en-place-dun-data-management/>> (consulté le 15/03/2020).

[3]: MHRA. *GXP Data Integrity Guidance and Definitions*; Revision 1, March 2018,21p.

[4]: Davidson James G, , *The Real Cost of Poor Data Integrity in Pharmaceutical Manufacturing*, Lachman Consultants, July-August 2016.

[5]: Pharmacopée européenne 8 -ème édition, chapitre 4.

[6]: Pr. Philippe Lechat Service de pharmacologie. Pharmacologie Niveau DCEM1. Université Pierre et Marie Curie faculté de médecine 2006 – 2007.

[7]: National Library Of Medicine, National Center For Biotechnology Information, PubChem, *compound furosemide* [en ligne]. Disponible sur : <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Furosemide>> (consulté le 20/02/2020)

[8]: William H. Brown. chapter 23 Amines, Problem 23.69P. *Organic Chemistry 8<sup>th</sup>* [en ligne]. 8TH 18, Cengage Learning, 2018. ISBN: 9781305580350. Disponible sur : < <https://www.bartleby.com/solution-answer/chapter-23-problem-2369p-organic-chemistry-8th-edition/9781305580350/a-diuretic-is-a-compound-that-causes-increased-urination-and-thereby-reduces-fluid-volume-in-the/33e2b11c-c342-11e9-8385-02ee952b546e> > (consulté le 02/02/2020)

[9]: VIDAL. « Furosémide 40 mg » version électronique

[10]: KATZUNG, Betram.G. Chapitre3 : médicaments antihypertenseurs, *Pharmacologie fondamentale et clinique Neuvième édition,2011.*

[11]: CROS, Aude, PELLETIER, Lionel, *Data integrity un prérequis à la traçabilité du système qualité, AKTEHOM*, IndutriePharma N°100 Décembre 2016.

[12]: RATTAN, A. K. . *Data Integrity: History, Issues, and Remediation of Issues.* PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology,2018, doi:10.5731/pdajpst.2017.007765.

[13]: FDA. *Data Integrity and Compliance With Drug CGMP, Questions and Answers, Guidance for Industry.*U.S. Department of Health and Human Services ,Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER) ,Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), Center for Veterinary Medicine (CVM) ,December 2018,12p.

[14] WHO. *Guidance on good data and record management practices*, Annex 5, WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations the Fifty-fifth meeting,12-16 Octobre 2020.29p.

[15] PIC/S. *Good Practices For Data Management And Integrity In Regulated Gmp/Gdp Environments*, Draft 3, Novembre 2018.52p.

[16] ANSM. BEZZENINE,Nabil, *Focus sur l'intégrité des données*, Réunion d'information à destination des opérateurs « matières premières à usage pharmaceutique » de l'inspection 23 Novembre 2017. [en ligne]. Disponible en PDF sur : <[https://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/8651cfff7685e4f659d1aca5d7ec593.pdf](https://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/8651cfff7685e4f659d1aca5d7ec593.pdf)> (consulté le 03/03/2020).

# BIBLIOGRAPHIE

---

[17] : PERRIN, Romain. *Réduction des déchets identifiés par le Lean management: application de méthodes et outils à l'industrie pharmaceutique*, Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES, UFR DE PHARMACIE DE GRENOBLE, 2018, 113p. **[en ligne]**. Disponible en PDF sur : <<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01879758/document> > (consulté le 17/03/2020).

[18] : Dynacom Technologies. *nutcache : un blog sur internet, La Méthode DMAIC : Guide complet de cette méthode d'amélioration continue*. **[en ligne]**. Disponible sur <<https://www.nutcache.com/fr/blog/methode-dmaic/> > (consulté le 13/04/2020).

[19] : HOHMANN, Christian. : un blog sur internet, Six Sigma et outils qualité. **[en ligne]**. Disponible sur < <http://christian.hohmann.free.fr/index.php/six-sigma/les-outils-de-la-qualite/476-le-diagramme-de-kano> > (consulté le 09/02/2020).

[20] : KERGOAT, Anaïs. *Application D'une Démarche DMAIC Dans Le Cadre D'une Problématique De Compression*, Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER, FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES, Décembre 2016, 109p. **[en ligne]**. Disponible en PDF sur : <<http://thesesante.ups-tlse.fr/1609/1/2016TOU32118.pdf>> (consulté le 28/03/2020).

[21] : RAYADI, Youssef. SIX SIGMA Outil de la performance industrielle, Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, UNIVERSITE MOHAMMED V-SOUISSI, FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT, 2012, 225p. **[en ligne]**. Disponible en PDF sur : <<http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/1799/P0292012.pdf?sequence=1&isAllowed=y> > (consulté le 04/04/2020).

[22] : polleux, arthur. Des outils de l'amélioration continue à la culture de l'excellence opérationnelle au sein d'un atelier de fabrication de forme sèche, thèse pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie, UNIVERSITE DE PICARDI JULES VERNE- UFR PHARMACIE, 13 OCTOBRE 2017, 117p.

[23] : BÉLANGER, Mathilde. *Apport De La Simulation Comme Outil De Déploiement De La Méthode « Design For Lean Six Sigma » : Le Cas Du Centre De Prélèvements Ambulatoire Sans Rendez-Vous Du Centre De Santé Et De Services Sociaux De Trois-Rivières*, MÉMOIRE COMME EXIGENCE PARTIELLE DE LA MAITRISE EN GÉNIE INDUSTRIEL (CONCENTRATION EN PRODUCTIQUE), L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES, Avril 2015, 137p. **[en ligne]**. Disponible en PDF sur : <<http://depot-e.uqtr.ca/id/eprint/7574/1/030884535.pdf> > (consulté le 03/04/2020).

# ANNEXE 01 : HPLC

---

La chromatographie est une technique analytique séparative, permettant l'identification ou le dosage des constituants d'un mélange et/ou préparation permettant la récupération des composés.

Parmi les techniques chromatographiques les plus employées actuellement dans les laboratoires d'analyse chimique l'HPLC (High Performance Liquid Chromatography ou Chromatographie Liquide à Haute Performance anciennement appelée High-Pressure Liquid Chromatography pour Chromatographie Liquide à Haute Pression).

Cette technique est devenue un outil analytique indispensable, elle permet l'identification, la séparation et le dosage des composés chimiques dans un mélange.

## 1. Principe de l'HPLC

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne.

Les constituants du mélange injectés sont soumis à un phénomène appelé rétention et se déplacent tous plus vite que la phase mobile et que leur vitesse de déplacement sont différents. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés. Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme.

Dans des conditions chromatographiques données, le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté), caractérise qualitativement une substance.

L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

## 2. Appareillage

Un chromatographe liquide haute pression comporte une ou plusieurs pompes qui propulsent l'éluant dans une colonne analytique. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques  $\mu\text{L}$ ) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un logiciel assure l'acquisition et le traitement des données.

# ANNEXE 01 : HPLC

---

## 2.1. Réservoirs de phases mobiles (éluant)

Un appareil HPLC comprend un ou plusieurs réservoirs, en verre ou en acier inoxydable résistants à la corrosion et contenant les solvants. Des gaz ambiants comme l'oxygène, peuvent être dissous dans les solvants, former des bulles dans la colonne et créer des perturbations dans la détection. De même des poussières en suspension peuvent perturber les séparations et gêner le bon fonctionnement des pompes et des détecteurs.

Il est donc souhaitable de dégazer et de filtrer les solvants afin d'éliminer ces perturbations. Le dégazage peut s'effectuer par pompage sous vide, ultrasons, par chauffage et agitation, ou réaction catalytique qui transforme l'oxygène en formaldéhyde ou acide formique en présence de méthanol, ou encore par barbotage d'hélium qui permet de retenir environ 85% d'oxygène en 10 minutes, les solvants sont exempts d'hélium après barbotage du fait de sa faible solubilité dans les solvants ordinaires d'où son intérêt.

## 2.2. Système de pompage

Tout appareil HPLC doit contenir au minimum une pompe qui va délivrer en continu la phase mobile et forcer son passage à travers la colonne et provoquer un écoulement compatible avec la séparation chromatographique.

Les pompes requises doivent répondre à des exigences rigoureuses :

- atteindre des pressions élevées : -200bars (20000kpa) ou plus ;
- être exempt d'impulsions ;
- imposer des débits reproductibles de 0,1 à 10mL/min ;
- résister à la corrosion et aux solvants ;
- permettre de délivrer un éluant de composition fixe en mode isocratique ou de composition variable pour travailler en gradient d'élution.

Elles permettent de travailler :

- en mode isocratique : c'est à dire l'élution est effectuée avec un seul solvant ou un mélange de composition fixe et constante ;
- en mode gradient : élution avec programmation des solvants de polarité différente les pompes actuelles ont un débit variable de quelques ml à plusieurs ml/minutes.

## 2.3. Injecteurs

Pour réaliser une injection dans des bonnes conditions, il convient :

# ANNEXE 01 : HPLC

---

- De ne pas surcharger la colonne ; si l'échantillon est trop important on aboutit à des pics très larges et des phénomènes de traîne, autant de facteurs qui concourent à diminuer le pouvoir de résolution de la chromatographie. [26]

- D'injecter très rapidement. La durée d'une injection est égale à :

$$d \text{ (secondes)} = \text{Volume de la boucle } (\mu\text{L}) / \text{Vitesse du flux } (\mu\text{L/s})$$

Pour injecter rapidement, on utilise des échantillons de faible volume.

## 2.4. Colonnes.

La colonne est la partie la plus importante du système, puisque c'est à cet endroit que se fait la séparation des composés. Les colonnes sont en acier inoxydable, de longueur variant de 5 à 25 cm avec un diamètre interne de 4 à 4,6 mm. Ces colonnes sont remplies de la phase stationnaire, dont le diamètre des particules varie de 3 à 10  $\mu\text{m}$ . Des compagnies se spécialisent dans la vente de colonnes pour HPLC. Pour éviter l'obstruction et la détérioration des colonnes par les contaminants, on place habituellement une colonne de garde plus petite et moins dispendieuse au sommet de la colonne principale. Les colonnes de garde doivent être changées régulièrement.

## 2.5.Phase stationnaire.

### 2.5.1. Phase normale.

La phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaires qui sortent en tête. L'inconvénient d'une telle phase, c'est une détérioration rapide au cours du temps du gel de silice, ce qui entraîne un manque de reproductibilité des séparations.

### 2.5.2. Phase inverse.

La phase inverse est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C8 et C18). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant B polaire (ACN, Me OH, H<sub>2</sub>O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier. Contrairement à une phase normale, il n'y a pas d'évolution de la phase stationnaire au cours du temps, et la qualité de la séparation est donc maintenue constante

### 2.5.3. Phase mobile.

# ANNEXE 01 : HPLC

---

L'interaction plus ou moins forte entre la phase mobile et la phase stationnaire normale ou à polarité inversée se répercute sur les temps de rétention des solutés. La polarité de la phase stationnaire permet de distinguer deux situations de principe :

- Si la phase stationnaire est polaire, on utilisera une phase mobile peu polaire la chromatographie est dite en phase normale.
- Si la phase stationnaire est très peu polaire, on choisira une phase mobile polaire (le plus souvent des mélanges de méthanol ou d'acétonurie avec de l'eau), c'est la chromatographie en phase inverse.

En modifiant la polarité de la phase mobile, on agit sur les facteurs de rétention  $k$  des composés.

Les silices greffées conduisent en général à une perte importante de polarité. Avec une phase greffée, l'ordre d'élution est opposé à celui auquel on est habitué avec les phases normales. Ainsi avec un éluant polaire, un composé polaire migre plus vite qu'un composé apolaire.

Dans ces conditions les hydrocarbures sont fortement retenus. On réalise des gradients d'élution en diminuant au cours de la séparation la polarité de l'éluant (ex : mélange eau /acétonurie dont la concentration en acétonitrile va en croissant au cours de l'élution). On peut, en mélangeant plusieurs solvants, ajuster le pouvoir d'élution de la phase mobile.

## 2.7. Détecteurs.

Permettant à la fois, de mettre en évidence la sortie des solutés de la colonne et de donner un signal proportionnel à la quantité de chacun de ces solutés.

Les principaux caractères d'un détecteur idéal sont :

- ✓ Une sensibilité appropriée, en générale les sensibilités des détecteurs utilisés de nos jours sont comprise entre 10<sup>-8</sup> et 10<sup>-15</sup> grammes de soluté
- ✓ Une bonne stabilité et une bonne reproductibilité
- ✓ Une réponse linéaire
- ✓ Un temps de réponse rapide indépendant de la vitesse d'écoulement
- ✓ Une grande fiabilité et facilité d'emploi
- ✓ Une réponse uniforme à tous les solutés ou, au contraire, réponse sélective limitée à une ou plusieurs classes de solutés.
- ✓ La préservation de l'intégrité de l'échantillon
- ✓ Le volume du détecteur HPLC devrait être le plus faible possible afin de
- ✓ diminuer l'élargissement des bandes

### 2.7.1. Détecteur d'absorption dans l'U.V visible.

Ces détecteurs mesurent l'absorbance d'une lumière monochromatique du soluté à une longueur d'onde dans le domaine UV-visible. Ils sont les plus utilisés en HPLC. Cette détection suit la loi de Beer Lambert.

# ANNEXE 01 : HPLC

$$A = \epsilon \lambda . I . C$$

Avec :

- **A** : absorbance
- **$\lambda$**  = longueur d'onde dans UV-Vis;
- **$\epsilon \lambda$**  : le coefficient d'absorption molaire en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$  à  $\lambda$
- **I** : épaisseur de la solution traversée ou de la cellule en cm
- **C** : la concentration de la solution en mol/L

### 3. Champs d'application de l'HPLC

Vue sa sensibilité et sa facilité d'adaptation, l'HPLC est utilisé plus en analyse quantitative qu'en analyse qualitative.

Cette technique est appliquée dans plusieurs domaines, elle permet :

- ✓ En biochimie, le dosage de l'hémoglobine A1c, les acides aminés, les protéines, les hydrates de carbones, hormones, les acides nucléiques, vitamines etc. )
- ✓ En hématologie, le dosage qualitative et quantitative des hémoglobines anormales
- ✓ En toxicologie, la mise en évidence et le dosage des substances responsables d'une intoxication volontaires ou non, des drogues, des amphétamines, de la méthadone, etc.
- ✓ En pharmacologie, le dosage de nombreux médicaments pour un suivi thérapeutique. L'HPLC a marqué sa place dans tous les secteurs de l'industrie pharmaceutique (R et D, contrôle qualité, validation du nettoyage).

$y_i$  est l'aire du pic pour l'injection  $i$  donné par l'intégration du pic.

$Y' = 1/6 (y_1 + y_2 + \dots + y_6)$  la moyenne des aires du pic.

On peut calculer l'écart type relatif en pourcentage :  $\% RSD = 100 \sigma / Y'$

RSD : Relative Standard Déviation.

### 4. Grandeurs de rétention

Ce sont :

- Le temps de rétention  $t_r$
- Le volume de rétention ou (volume d'éluion)  $V_r$  : le volume de la phase mobile nécessaire à entrainer le soluté jusqu'à la sortie de la colonne. Sur le chromatogramme, il correspond au volume de la phase mobile qui s'est écoulé entre l'instant de l'injection et celui correspondant au sommet du pic.

Soit  $D$  le débit de la phase mobile, alors :  $V_m = t_r \times D$

$V_m$  : Volume mort est le volume de la phase mobile de la colonne, il peut être calculé sur le chromatogramme par introduction d'un composé non retenu par la phase stationnaire selon:  $V_m = t_m \times D$

# ANNEXE 01 : HPLC

## 4.1. Analyse qualitative.

### 4.1.1. Notion de concentration

A)- Le coefficient de partage  $K$  : A un instant donné, le soluté est à la concentration  $C_m$  dans la phase mobile et  $C_s$  dans la phase stationnaire. Leur rapport à l'équilibre est appelé coefficient de partage  $K$

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

Ce coefficient est en fonction de 3 types d'affinités :

- Celle entre le soluté et la phase mobile
- Celle entre le soluté et la phase stationnaire
- Celle entre les phases mobile et stationnaire

B)-Le facteur de capacité  $K'$  : est le rapport de la quantité d'un soluté dans la phase stationnaire et dans la phase mobile.

$$K' = \frac{C_s \times V_s}{C_m \times V_m} = K \times \frac{V_s}{V_m}$$

$V_s$  : volume de la phase stationnaire

$V_m$  : volume de la phase mobile ou volume mort

$K'$  est aussi le rapport du temps passé par un soluté dans la phase stationnaire sur le temps passé par ce même soluté dans la phase mobile.

$$K' = \frac{t_r - t_m}{t_m}$$

### 4.2.2. Notions d'efficacité ou performance d'une colonne.

Elle se traduit par la finesse des pics obtenus par les composés. Plus le pic est fin plus la colonne est efficace. Elle s'exprime par deux grandeurs  $N$  et  $H$

-Nombre de plateaux théoriques  $N$  :

il correspond aux nombre d'équilibres successifs qu'a subi un composant du mélange.

$$N = 16 \frac{t_r^2}{\omega^2} = 5,54 \frac{t_r^2}{\delta^2}$$

$t_r$  : temps de rétention

$\delta$  : Largeur du pic à mi-hauteur Plus le pic est fin, plus le  $N$  est grand et donc la colonne est efficace.  $N$  est caractéristique d'un système chromatographique (colonne + solvants + composés à séparer).

La hauteur équivalente à un plateau théorique :

# ANNEXE 01 : HPLC

HEPT ou H qui est défini comme :

$$\text{HEPT} = L / N$$

L : longueur de la colonne

N : Nombre de plateaux théoriques

Si l'on tient compte des temps morts, on définit : le nombre de plateaux efficaces  $N'$  (= nombre de plateaux théoriques effectifs  $N_{\text{eff}}$ ) :

$$N' = 16 [ t_r - t_m \omega ]^2 = 5,54 [ t_r - t_m \delta ]^2$$

## Les facteurs d'élargissement des pics

- -La diffusion turbulente : l'élargissement est expliqué par le fait qu'il existe différents chemins parcourus par les molécules d'un soluté des chemins n'étant pas la même, elles ne mettent pas toutes le même temps pour traverser la colonne : le pic s'élargit. Ce phénomène est fonction des particules et de la régularité du remplissage.
- -La résistance au transfert de masse : l'élargissement est expliqué par l'accumulation de la phase mobile dans les anfractuosités du support. Les molécules qui y diffusent vont moins vite que celles qui n'y diffusent pas.
- -La diffusion longitudinale : ce phénomène diminue plus la vitesse de la phase mobile augmente. Dans la pratique cette diffusion est négligeable en HPLC.

En conclusion l'efficacité calculée d'une chromatographie, représentée par la HEPT, est fonction de la vitesse de la phase mobile donc du débit, et de la qualité (régularité, remplissage) de la phase stationnaire.

## 4.2. Analyse quantitative

Cette analyse est basée sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration ou à la quantité du produit analysé. Dans la pratique on injecte les composés en solution et on préfère utiliser des concentrations plutôt que les masses.

Il y a une proportionnalité entre la masse injectée et la concentration du soluté, à condition de toujours injecter le même volume de solution.

On écrira donc :

$$A = K_c C \quad A = \text{aire du pic}$$

$$K_c = \text{coefficient de réponse du détecteur}$$

$$C = \text{concentration du composé injecté.}$$

La chromatographie liquide à haute performance est utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour analyser les matières premières et les produits finis afin d'assurer que les niveaux de qualité préétablis sont respectés.

L'HPLC est particulièrement utile pour la séparation de matériaux de masse élevée qui ont une très faible volatilité et ne peuvent pas être séparés par chromatographie en phase gazeuse.

# ANNEXE 01 : HPLC

---

Sa large utilisation est due à sa capacité d'agir d'une manière très précise sur la sélectivité par le choix de la colonne et de la composition de l'éluant, autrement dit à la meilleure exploitation des interactions soluté-phase mobile-phase stationnaire.

# ANNEXE 02 : VALIDATION ANALYTIQUE

---

La validation des méthodes d'analyses est une exigence en assurance qualité ;et est devenue un élément majeur pour la démonstration de la compétence des laboratoires accrédités ; dans le domaine pharmaceutique son exigence est avant tout une pratique réglementaire .

Depuis toujours les analystes « valident » leurs méthodes en effectuant des séries de mesures plus ou moins bien organisées pour essayer de démontrer qu'elles conviennent à leurs objectifs.

## 1. Définition :

La validation est une opération qui intervient après le développement d'une nouvelle procédure d'analyse, elle sert à démontrer que la méthode adoptée à l'application prévue est performante et que les résultats obtenus sont fiables, et pour que cette définition soit juste elle doit répondre aux exigences des différents documents réglementaires et directives tels que ISO 8402 :1995, NF03-110-1998 USP25 2005.

**Selon la norme ISO/IEC 17025 :** *La validation se définit comme la « confirmation par l'examen et l'apport de preuves objectives du fait que les prescriptions particulières en vue de l'utilisation prévue déterminée sont remplies »*

Les guidelines :

Documents des commissions de la SFSTP

Documents ISO 17025

Documents ISO 5705

Documents de la FDA Validation of Bioanalytical Method (2001).

Documents AFNOR (normes AFNOR NF V 03-110)

Documents ICH:

\* ICHQ 2A: Validation of analyticals method « definitions and terminology »1995:  
Textes qui regroupent les définitions et la terminologie qui doivent être prises en compte au cours de la validation des méthodes analytiques.

\* ICHQ 2B: Validation of analyticals method «Methodology» 1997:  
Son but est de fournir des conseils et recommandations sur la manière d'appréhender les différentes caractéristiques de la validation pour chaque méthode analytique. En outre, le document fournit une indication sur les données qui devraient être présentées dans un dossier d'enregistrement.

\*ICHQ2R1: Validation of analyticals method « Text and methodology » 2005:  
C'est une révision de l'ICHQ 2A et ICHQ2B, dans le but de regrouper les textes de la terminologie et les définitions avec la méthodologie.

## 2. La validation analytique :

La méthode d'analyse se définit comme étant la manière dont une analyse est effectuée. ,

Selon ICH Q2A : la validation d'une procédure analytique a pour objectif de démontrer que cette dernière est appropriée l'usage auquel elle est destinée.

## 3. Objectif de la validation :

La validation des méthodes a pour principal but de s'assurer qu'une méthode analytique donnée donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, et de garantir aux autorités compétentes ainsi qu'au laboratoire d'analyse, que chaque analyse réalisée ultérieurement une fois la procédure validée sera la plus exacte possible

# ANNEXE 02 : VALIDATION ANALYTIQUE

---

## 4. Quand est ce qu'on valide ?

Les méthodes doivent être validées ou revalidées :

- ✓ Avant leur utilisation en routine
- ✓ Quand le contrôle qualité indique qu'une méthode établie change avec le temps
- ✓ Pour démontrer l'équivalence entre deux méthodes
- ✓ En cas de modification des conditions de validation de méthodes

## 5. Qu'est ce qu'on valide ?

- ✓ Méthode conçue et développée par le laboratoire
- ✓ Les méthodes normalisées employées en dehors de leurs domaines d'application.
- ✓ Modification de méthode normalisée
- ✓ Modification de la voie de synthèse de la substance pharmaceutique
- ✓ Modification de l'un des composants des produits finis
- ✓ Modification de la procédure analytique
- ✓ Modification des conditions opératoires et environnementales.

## 6. Critères de validation :

Les critères de validation sont ceux couramment utilisés dans les procédures analytiques. Il s'agit, de la justesse, de la fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire), de la linéarité et de l'exactitude.

### 6.1. Linéarité :

La linéarité d'une méthode d'analyse est sa capacité de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration de la substance analysée dans un échantillon.

### 6.2. Justesse :

La justesse correspond au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée comme véritable par convention. La justesse doit être vérifiée dans le domaine d'utilisation de la méthode d'analyse.

### 6.3. Fidélité :

La fidélité d'une méthode correspond au degré d'accord entre les résultats des mesures obtenues par l'analyse individuelle de plusieurs prélèvements d'un même échantillon homogène, prélevés dans des conditions prescrites. La fidélité peut s'évaluer à trois niveaux :

- Répétabilité
- Fidélité intermédiaire
- Reproductibilité

La fidélité est généralement exprimée par la variance, l'écart-type ou le coefficient de variation d'un ensemble de mesures.

### 6.4. Répétabilité :

La répétabilité est une expression de la fidélité de l'analyse lorsque celle-ci est reprise dans les mêmes conditions de réalisations, après un court intervalle de temps. La répétabilité est aussi désignée fidélité intra- analyse.

**Condition de répétabilité :** condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, le même opérateur, le même lieu, ainsi que les

# ANNEXE 02 : VALIDATION ANALYTIQUE

---

mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps.

## 6.5. Fidélité intermédiaire :

La fidélité intermédiaire correspond aux variations survenant dans un même laboratoire analyses effectuées pendant des jours différents, par des personnes différentes, au moyen d'appareils différents, etc .

## 6.6. Reproductibilité :

La reproductibilité correspond à la concordance entre laboratoires.

### *Condition de reproductibilité :*

Condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires.

## 6.7. L'exactitude :

Exprime la somme de la justesse et fidélité, sa définition selon ISO5725, 1996 correspond à la suivante : étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée communément appelée valeur conventionnellement vraie, et donc cette étroitesse d'accord signifie la somme d'erreurs systématiques et aléatoires combinée qui est la observés.

## 7. Différentes Approches de la validation analytique :

Quatre approches statistiques conventionnelles existent pour évaluer les critères de la validation :

### 7.1. Approche descriptive :

L'approche descriptive utilise seulement des estimations des paramètres statistiques : Le biais et la fidélité intermédiaire.

Les valeurs estimées de chaque critère sont calculées à chaque niveau de concentration des standards de validation et sont comparées aux limites d'acceptation fixées a priori.

Les limites d'acceptation rencontrées dans l'industrie pharmaceutique pour des méthodes de dosages de principes actifs dans des produits finis sont :

–  $\pm 2\%$  pour le biais relatif

–  $3\%$  pour le  $CV_{FI}$

Cela signifie que si le biais estimé est inclus dans l'intervalle de  $[-2\%, +2\%]$ , la justesse de la méthode pour le niveau de concentration étudié est acceptée.

Pour le critère de fidélité, si le  $CV_{FI}$  est plus petit que  $3\%$ , la fidélité de la méthode pour le niveau de concentration étudié est acceptée.

### 7.2. Approche de différence :

L'approche de différence est basée sur le test d'hypothèse. Ce test est composé de deux hypothèses à savoir l'hypothèse nulle  $H_0$  et l'hypothèse alternative  $H_1$ .

Le critère de justesse (ou le biais de la méthode) est évalué en utilisant un test bilatéral de student dont les hypothèses nulles et alternatives sont données ci-dessous. Ceci peut être vérifié en comparant l'intervalle de confiance à  $95\%$  du biais global estimé à la valeur  $0\%$  de biais relatif.

# ANNEXE 02 : VALIDATION ANALYTIQUE

---

## 8. Profil d'exactitude :

Le profil d'exactitude ne s'applique qu'aux méthodes complètement développées et mises au point. En particulier, la sélectivité/spécificité doit avoir été étudiée ainsi que le domaine d'application de la méthode à valider, en termes de types de matrice et de niveaux de concentrations. Le domaine d'application du profil d'exactitude s'inspire directement de la norme ISO 17025 :2005 qui propose que « Le laboratoire doit valider les méthodes non normalisées, les méthodes conçues/développées par le laboratoire, les méthodes normalisées employées en dehors de leur domaine d'application prévu, ainsi que les amplifications ou les modifications de méthodes normalisées, afin de confirmer que les méthodes sont aptes à l'emploi prévu. La validation doit être aussi étendue que l'impose la réponse aux besoins pour l'application ou le domaine d'application donné ».

Combinaison, sous une forme graphique, d'un ou plusieurs intervalles de tolérance d'espérance  $\beta$  calculés à différents niveaux de concentration et d'une ou plusieurs intervalles d'acceptabilité.

## 9. Rappel sur les normes de la série ISO 5725

Le profil d'exactitude est basé sur une application directe des principes décrits dans les normes de la série ISO 5725 (1, 2, 3, 4 ; 1994)]. On y propose un modèle statistique pour estimer l'exactitude (justesse et fidélité) d'une méthode ou de résultats. Ce modèle décrit un mesurage  $z$  d'un mesurande  $Z$  sous la forme :  $z = m + B + e$

Où :

- $m$  est la moyenne générale de l'échantillon homogène
- $B$  la composante du biais du laboratoire sous condition de répétabilité
- $e$  l'erreur aléatoire survenant dans chaque mesurage, sous condition de répétabilité

Dans le cas d'une étude inter-laboratoires, la composante du biais  $B$  provient des laboratoires, mais elle peut aussi provenir de toute autre source d'incertitude, comme le jour, l'opérateur, l'instrument... dans le cas d'une étude intra laboratoire.

Dans le vocabulaire statistique, un tel modèle est dit « **modèle d'analyse de la variance à un seul facteur à effets aléatoires** » ou aussi « **modèle des composantes de la variance** »

Outre les méthodes statistiques pour calculer les critères d'exactitude, les normes ISO 5725 précisent aussi en détail l'organisation de la collecte et les précautions à respecter.

# ANNEXE 02 : VALIDATION ANALYTIQUE

---

## 9.1. Profil d'exactitude en 10 étapes :

- Définir la quantité mesurée
- Préciser des objectifs de la validation
- Sélectionner les échantillons de validation
- Planifier les essais de validation
- Planifier l'étalonnage (pour les méthodes indirectes)
- Réaliser les essais
- Calculer les concentrations prédites inverses [méthodes indirectes]
- Calculer les critères de validation
- Construire le profil d'exactitude
- Interpréter le profil d'exactitude pour la validation

Le profil d'exactitude peut être construit de différentes façons, en fonction du type de données traité. La méthode la plus classique, lorsqu'on a à faire à des concentrations relatives, est celle présentée à la figure 3 où les performances sont exprimées de façon relative, par un taux de recouvrement. Mais si les données sont des comptages exprimés en logarithmes, il vaut mieux exprimer les performances, comme des différences entre 2 logarithmes, ce qui est équivalent à un rapport. Pour construire le profil d'exactitude, sélectionner dans le tableau 5, les lignes suivantes :

– à reporter sur l'axe horizontal :

1) Les valeurs de référence moyennes.

– à reporter sur l'axe vertical :

2) Les limites de tolérance basses relatives ;

3) Les limites de tolérance hautes relatives ;

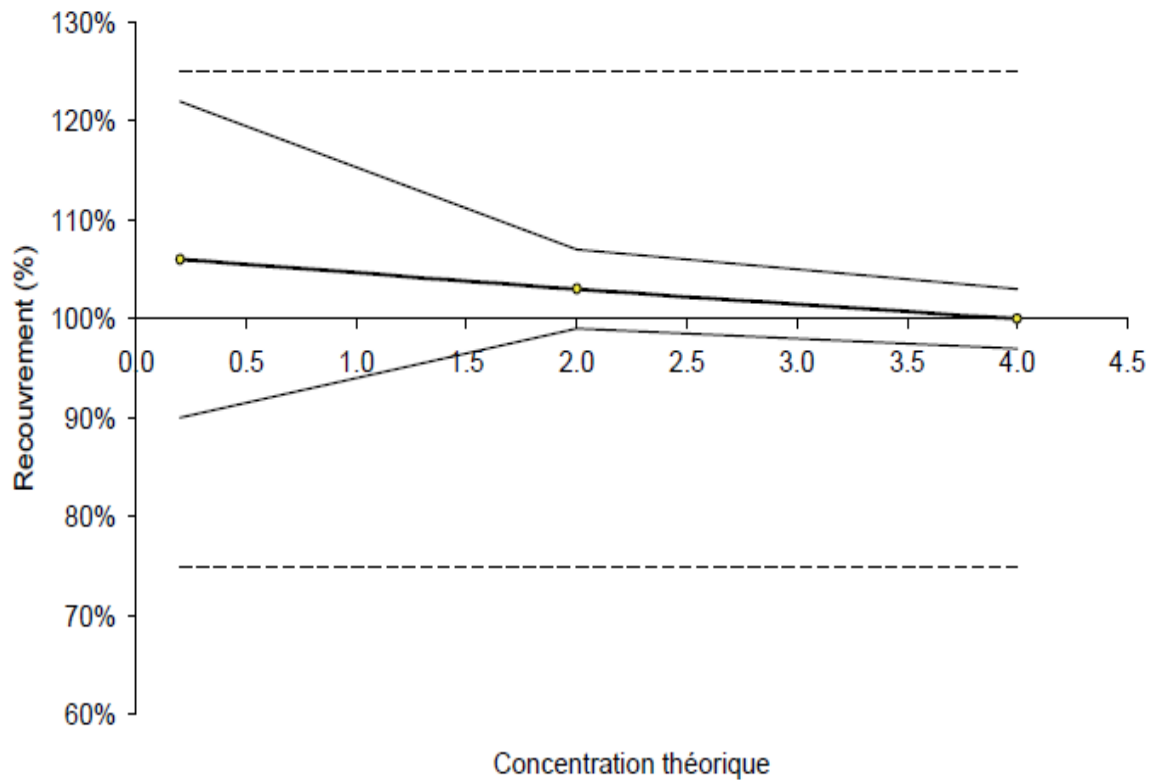
4) Les taux de recouvrement moyens ;

5) Les limites d'acceptabilité basses relatives ;

6) Les limites d'acceptabilité hautes relatives.

# ANNEXE 02 : VALIDATION ANALYTIQUE

Reporter ces données sur un graphique en utilisant les valeurs de référence moyennes pour dessiner l'axe des abscisses, comme l'illustre la figure.



**Figure 1 : Profil d'exactitude.**



# ANNEXE 04 : BRAINSTORMING

---

## PV du brainstorming

- **Date** : 07/10/2020.

- **Lieu** : Laboratoire de chimie analytique de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou.

- **Heure** : de 14h à 15h.

- **La réunion est présidée par** : Docteur AKLI qui est la Co promotrice du mémoire de fin d'étude : « Application de l'approche Data Integrity en Contrôle Qualité des produits Pharmaceutiques. Cas d'une analyse par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC). »

### -Participants :

- FERNANE Lamia
- HACHI Yasmine
- OUADDA Sonia
- REGHAL Djouher
- KADI Bilal
- INGRACHEN Yasmine
- MESSAD Ahmed
- ABDENOURI Abdel Hamid
- AKROUM Adel
- BRAHIMI Rabeh

- **Problématique** : « Après avoir inséré des résultats sur la feuille de calcul et avoir tracé les profils d'exactitude, des valeurs aberrantes pour les niveaux 12.5%, 25% et 50% ont été constatées, par conséquent elles ne sont pas incluses dans l'intervalle de conformité fixé pour le produit fini qui est de  $\pm 5$  %. Pourquoi ces valeurs aberrantes ? ».

### -Les règles de brainstorming sont les suivantes :

- ❖ Penser et exprimer librement : laisser libre court à l'imagination et spontanéité.
- ❖ Ne pas critiquer les idées et suspension des jugements.
- ❖ Tabler sur la quantité et produire un maximum d'idées.
- ❖ Développer ou/et Combiner les idées.
- ❖ Chacun exprime son idée en respectant son tour de parole.
- ❖ Bien noter les idées et les rendre visible à tous.

## ANNEXE 04 : BRAINSTORMING

---

- Les causes probables liées à la problématique citée ci-dessus, exprimées par les participants sont exposées dans le tableau ci-après :

Les causes possibles
Erreurs de manipulation : <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Balance analytique non calibrée, pesées erronées</li><li>➤ Mauvais choix du diluant ou du solvant</li><li>➤ Remplissage des viales sans filtration des solutions au préalable.</li><li>➤ Non nettoyage de la verrerie</li></ul>
Erreurs lors de l'analyse : <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Non injection de la bonne vial</li><li>➤ Présence d'impuretés.</li><li>➤ Mauvaise longueur d'onde fixée pour la détection.</li><li>➤ Variation des temps de rétentions des différents échantillons du même standard due à la variation de la température de l'environnement</li><li>➤ Mauvaise intégration des pics chromatographiques</li><li>➤ Non prise en considération des signaux par le système d'intégration due aux variations de temps de rétentions.</li></ul>

-Après discussion avec les différents participants, on a procédé au tirage des causes.

-Les causes liées aux erreurs de manipulations ont été écartées et les deux causes retenues sont les suivantes :

- Non prise en considération des signaux par le système d'intégration due aux variations du temps de rétention.
- Variation des temps de rétentions des différents échantillons du même standard due peut être à la variation de la température de l'environnement.

# ANNEXE 04 : BRAINSTORMING

---

-Les solutions proposées sont résumées dans le tableau suivant :

Les solutions proposées
<ul style="list-style-type: none"><li>• Pour remédier au problème de la température qui cause la modification des temps de rétention on peut améliorer les performances de la HPLC ainsi que la sophistication de l'enceinte de l'HPLC et tout le laboratoire en installant des climatiseurs et des isolateurs.</li><li>• Intégration manuelle ou mathématique.</li><li>• Pour ce qui concerne le problème de la non prise en considération des signaux par le système d'intégration, la solution proposée pour y remédier est d'intégrer automatiquement, et ce par création d'un logiciel adéquat qui permettra une sélection directe des chromatogrammes.</li></ul>

La solution votée est : « Procédé à une intégration automatique et la mise en place d'un logiciel adéquat, et sophistiqué lors de l'intégration des pics chromatographique pour toute analyse par HPLC»

D'autres solutions ont été proposées que la majorité des présents ont jugé nécessaire de prendre en considération aussi sont les suivantes :

- ✓ Mettre en place un audit trail afin de contrôler toutes activités au sein de l'HPLC.
- ✓ Sécuriser l'accès à l'HPLC et surtout à l'intégration cela par la création des identifiant sécurisés.
- ✓ Equipement de la salle HPLC ainsi que tout le laboratoire avec des isolateurs et des climatiseurs afin de maîtriser de toute variations des conditions externes.

# ANNEXE 05 : AUDIT TRAIL

---

## Audit trail

- Date de mise en marche du système
- Heure de la mise en marche du système
- Identifiant de l'opérateur

### 1- Réservoir

- Date de la préparation de la phase mobile
- Type de la phase mobile
- Quantité de la phase mobile
- Conservation
- Dégazage
- Filtration

### 2- La pompe

- Heure de démarrage
- Nettoyage
- La purge
- Le purgeur utilisé
- Variation de la pression

Mode utilisé : Isocratique/ Gradient de concentration

- Identifiant de la pompe utilisée
- Le débit

### 3- Injecteur :

- L'heure de l'injection
- Volume injecté
- Portoire utilisé
- Positionnement de la vial
- Nom de l'échantillon

# ANNEXE 05 : AUDIT TRAIL

---

- Type d'injection
- Boucle de l'injecteur
- Etat de l'injecteur
- Nombre d'injection
- Echantillon :
- date de péremption/de fabrication
- conditions de conservation
- filtration

## 4- Colonne

- Type : diamètre/ Longueur
- Positionnement de la colonne
- Détection de fuites
- Utilisation d'une pré-colonne
- Suivre de température

## 5- Détecteurs

- Types de détecteurs utilisés
- Etat du détecteur

### a) UV-Visible

Longueur d'onde choisit

Le scanne

Sensibilité

Limites de détections

### b) Fluorescence

Longueur d'onde d'émission et d'excitation

Sensibilité

Limite de détections

# ANNEXE 05 : AUDIT TRAIL

---

c) Electrochimie

Potentiel RED-OX entre deux électrodes

Sensibilité

Limite de détection

6- Système

- La méthode utilisée

-Conditions de chromatographie

- L'intégration des pics : Temps mort/ hauteur / mi-hauteur/ efficacité/ débit/ temps mort/ volume mort/ résolution/ facteur de capacité/ nombre de plateau théorique/ l'air du pic

-Type d'intégration : manuelle/semi-automatique/automatique

-Modifications apportées au chromatogramme originale

# RESUME

---

La maîtrise de la DATA INTEGRITY repose sur le principe ALCOA<sup>+</sup> qui exige que les données soient « attribuables, lisibles, contemporaine, originales, précises, complètes cohérentes, durables et disponibles », est une exigence des autorités sanitaires et des instances réglementaires internationales qui régit la qualité, la sécurité et l'efficacité du médicament.

Le but de ce présent travail est de mettre en évidence l'intérêt de la DATA INTEGRITY dans le contrôle qualité des médicaments notamment la validation analytique au niveau du laboratoire de chimie analytique du département de pharmacie de TIZI OUZOU.

L'application de la méthode DMAICS a été effectuée afin de détecter et de résoudre les problèmes rencontrés lors de ce travail. Différents outils ont été utilisés dans le but d'identifier le problème et apporter des solutions adéquates en s'appuyant sur les différents outils du DMAICS : QQQCP, 5M, diagramme d'Ishikawa, feuille de relevé, 5 pourquoi, brainstorming, vote pondéré.

La solution retenue :

« Procéder à une intégration automatique et la mise en place d'un logiciel adéquat ainsi que l'amélioration des conditions du laboratoire afin de veiller à toutes variations des conditions externes. »

Pour finir un audit trail a été proposée pour contrôler et assurer une amélioration continue.

Enfin la validation a été effectuée en prenant en considération les solutions obtenus après l'application de la méthode DMAICS dans la mesure du possibles la méthode de dosage du furosémide est valide dans l'intervalle allant de 5 à 50.01 mg.

**Mots clés :** Data integrity, ALCOA, DMAICS, Validation, HPLC .

## Abstract

The mastery of DATA INTEGRITY, which is based on the ALCOA+ principle that requires that data be "attributable, legible, contemporary, original, accurate, complete, consistent, durable and available", is a requirement of health authorities and international regulatory bodies that govern the quality, safety and efficacy of the drug.

The aim of this work is to highlight the interest of DATA INTEGRITY in the quality control of drugs, in particular the analytical validation at the level of the analytical chemistry laboratory of the pharmacy department of TIZI OUZOU.

The application of the DMAICS method was carried out in order to detect and solve the problems encountered during this work. Different tools were used in order to apply the six steps of DMAICS: QQQCP, 5M, Ishikawa diagram, statement sheet, 5 whys, brainstorming, weighted voting.

The chosen solution :

"Process to an automatic integration and the implementation of an adequate software as well as the improvement of the conditions of the laboratory in order to take care of all variations of the external conditions. »

Finally, an audit trail was proposed to control and ensure continuous improvement.

Finally, the validation was carried out taking into consideration the solutions obtained after the application of the DMAICS method. As far as possible, the furosemide assay method is valid in the range of 5 to 50.01 mg.

Key words :Validation , DMAICS , ALCOA, Data integrity .