

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERY de Tizi Ouzou

Faculté de Médecine –

Département de Pharmacie



جامعة مولود معمري بتيزي وزو

كلية الطب –

قسم الصيدلة

## THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES

Thème :

**STRATEGIES DE VALIDATION DE NETTOYAGE EN INDUSTRIE  
PHARMACEUTIQUE : NOUVELLES RECOMMANDATIONS ET  
APPLICATIONS AUX EQUIPEMENTS DE FABRICATION DANS UN  
SITE MULTIPRODUITS**

Préparée par :

Dr MAMOU Marzouk

Maitre Assistant en Chimie Analytique

Directeur de Thèse : Pr HADEF Youcef

Professeur en Chimie Analytique – Faculté de Médecine d'ANNABA

Soutenue publiquement le 08 juillet 2018 devant le jury composé de ;

Professeur DENINE Rachid Ramdane	Président	Faculté de Médecine d'Alger
Professeur HADEF Youcef	Rapporteur	Faculté de Médecine d'ANNABA
Professeur HAMRIOUI Boussad	Membre	Faculté de Médecine d'Alger
Professeur GHARBI Abdelaziz	Membre	Faculté de Médecine de Blida
Professeur DAOUD Kamel	Membre	Faculté des Génies des Procédés – USTHB
Professeur BOUDIS Abdelhakim	Membre	Faculté de Médecine d'Alger

ANNEE 2018

# DEDICACE

## Je dédie ce travail

- A mes chers parents, à ma mère Chabha et à mon père Ali, sources de ma motivation. Ce travail est le fruit de votre éducation et de vos sacrifices sans limites.
- A ma femme Karima et à mes enfants Mohamed Amine et Yasmine Nada qui remplissent ma vie de bonheur et de joie. Que ce travail soit un grand cadeau pour vous.
- A mes frères et sœurs Mohamed, M'Hamed, Tassadit, Razika et leurs familles. Que ce travail soit une réussite de notre famille.
- A ma belle famille, mon beau père Mohamed, ma belle mère Ouiza, mes beaux frères, mes belles sœurs et leurs familles.
- A mes amis, Abdellah, Ahmed, Farhat, Ahmed, Mounir et Fawzi.
- A toute l'équipe de Chimie Analytique.
- A la mémoire de mes grands-parents
  - A la mémoire de notre chère collègue la regrettée BOUICHA Malika Nawel. Que le bon Dieu l'accueille dans son vaste paradis.
  - A la mémoire de Mon jeune cousin M'HAMED qui nous a quitté à jamais. Que le bon Dieu l'accueille dans son vaste paradis.
  - A la G45

# REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie le bon Dieu pour m'avoir donné la force et le courage de finir ce travail malgré toutes les difficultés de la vie. A lui seul la gloire.

**A Monsieur le Professeur HADEF Youcef  
Chef de Service de Chimie Analytique – CHU d'ANNABA**

Vous m'avez fait l'honneur de bien vouloir accepter de diriger mes travaux durant ces années de thèse. Permettez-moi de vous exprimer ma profonde gratitude et de vous adresser mes sincères remerciements pour votre disponibilité, pour vos précieux conseils et vos orientations et d'avoir placé en moi votre confiance en me laissant la liberté de réaliser ce travail.

---

**A Monsieur le Professeur DENINE Rachid Ramdane, Professeur de  
Pharmacie Galénique – Département de Pharmacie d'Alger**

Vous m'avez fait l'honneur de bien vouloir présider le Jury de soutenance de ma thèse, je vous prie d'accepter le témoignage de mon profond respect et de ma haute considération.

**Hommages respectueux.**

---

**A Monsieur le Professeur HAMRIOUI BOUSSAD, Professeur de  
Parasitologie et Mycologie médicales – Département de Pharmacie  
d'Alger**

Veillez trouvez l'expression de ma profonde reconnaissance pour avoir accepté de juger mon travail. C'est un grand honneur que vous me faites d'être membre de jury de ma thèse

**Hommages respectueux.**

---

**A Monsieur le Professeur GHARBI Abdelaziz, Maitre de Conférences  
classe A en Chimie Analytique – Département de Pharmacie de Blida**

Je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance pour le temps que vous avez consacré dans votre emploi du temps très serré pour juger mon travail et de siéger dans mon jury de thèse.

**Hommages respectueux.**

---

# REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur DAOUD Kamel. Professeur en Génie des Procédés. Faculté du Génie des Procédés – Université des Sciences Technologiques Houari BOUMEDIENNE.**

Veillez trouvez l'expression de ma profonde gratitude pour avoir accepté de juger mon travail. Je suis très honoré que vous soyez membre de jury de ma thèse.

**Hommages respectueux.**

---

**A Monsieur le Professeur BOUDIS Abdelhakim, Maître de Conférences classe A en Chimie Analytique – Département de Pharmacie d'Alger.**

Je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance pour le temps que vous avez consacré dans votre emploi du temps très serré pour juger mon travail et de siéger dans mon jury de thèse.

**Hommages respectueux.**

---

**A Madame BENCHIKH Thoraya, Directrice du Site Biopharm Industrie et Pharmacienne Directrice Technique**

Vous avez bien voulu accepter de m'accueillir dans votre entreprise afin de réaliser ce travail, permettez moi de vous adresser mes sincères remerciements pour votre gentillesse et votre valeureuse contribution qui m'a permis d'accomplir cette thèse.

Je tiens aussi à remercier l'ensemble du personnel de votre entreprise chez qui j'ai trouvé toute la compétence et la disponibilité requises. Je remercie très particulièrement ;

Monsieur **BENYOUCEF Brahim**, Directeur Qualité pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses précieux conseils.

Monsieur **BOUTMEUR Idir**, Responsable du Laboratoire Qualité pour sa disponibilité et des valeureuses orientations.

Monsieur **DJAFRI Kamel**, Responsable du Laboratoire de Contrôle Qualité pour sa contribution et sa disponibilité.

Mesdames **ARAB Samia**, Responsable du Département de Physico-chimie, **BRAHIMI Hajer**, Responsable du Laboratoire de Microbiologie et **BENSENOUSSA Sonia** Responsable de la validation du nettoyage au Laboratoire de Contrôle Qualité pour m'avoir beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail.

Monsieur **AYADI Salim** responsable de Production et toute l'équipe qu'il dirige, notamment Mr ALLICHE et l'équipe de la centrale de pesée pour leur contribution et leur disponibilité. A Monsieur **KAOUANE Amir**, Merci aussi pour tes valeureux conseils.

---

# REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail de thèse, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé, soutenu et encouragé, notamment ;

- 
- Ma famille qui m'a accompagné dans les moments de joie et dans les moments de doute.
  - A mes très chers amis Dr AMZIANE, Dr LOUNIS, Dr BOUCHALA et Dr TEBANI, pour leur soutien inconditionnel et sans limite.
  - Mes amis de promo BELLOUA Mounir et RABTA Mohamed, ZERGOUG Madjid.
  - L'équipe du laboratoire de Chimie Analytique du Département de Pharmacie de Tizi Ouzou, ingénieurs, technicienne, maître assistant, résidents et enseignants vacataires. Mme BERKOUN, Mme CHEBALLAH, Mme FETHI, Mme LEKAM, Dr BENSISAID, Dr BOURSOUTI, Dr TOUBAL, Dr AKLI, Dr KOUROGHLI, Dr AKROUM, Dr BRAHIMI, Mr TIGHRINE, Mme DEHBI, Mme SIZINE et Mme MAGMOUNE.
  - Dr DAHMANI, Chef de Service de Biochimie du CHU de Tizi Ouzou et l'ensemble du personnel médical, paramédical et du service.
  - Je remercie très particulièrement Dr ABDERRAHIM pour son aide précieuse et sa valeureuse contribution dans la partie mycologie. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et de ma parfaite considération.
  - Dr SEKLAOUI, Chef de Service de Parasitologie et Mycologie médicale et toute l'équipe du service.
  - Aussi bien, je remercie Dr ABDOUNE, Résident en microbiologie pour son aide dans la partie microbiologie, qu'il trouve ici toute ma reconnaissance
  - Dr MAACHA, Sous Directeur des Produits Pharmaceutiques du CHU de Tizi Ouzou, pour son soutien et ses encouragements durant la préparation de cette thèse. Aussi, je remercie tout le personnel de son équipe.
  - Tous le personnel enseignant et ATS de la de la Faculté de Médecine de Tizi Ouzou.

---

Une pensée particulière à tous mes enseignants, de l'école primaire jusqu'à l'université.

---

Une pensée toute particulière à Dr KHELIL Said à qui revient l'honneur d'avoir lancé avec toute l'équipe de son époque le Département de Pharmacie de Tizi Ouzou.

**Une pensée particulière aussi à ceux que je côtoie et que je n'ai pas cités.**

# TABLE DES MATIERES

Dédicace	
Remerciements	
Table des matières.....	i
Liste des abréviations et des acronymes.....	xii
Liste des tableaux.....	xiv
Liste des figures.....	xxi
Introduction.....	1

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### **Chapitre I : La contamination en industrie pharmaceutique : les enjeux et les moyens de lutte**

1.	Définition de la contamination.....	4
2.	Différents types de contamination.....	4
	2.1. Contamination particulière.....	4
	2.2. Contamination microbiologique ou biocontamination .....	5
	2.3. Contamination chimique.....	5
	2.4. Contamination croisée.....	6
3.	Triangle de la contamination : Relation Sources – Vecteurs – Récepteurs de la contamination.....	7
	3.1. Sources et vecteurs de la contamination : approche des 5 M.....	7
	3.2. Récepteurs de la contamination.....	9
4.	Facteurs aggravant la contamination.....	9
5.	Enjeux de santé et économique de la contamination en industrie pharmaceutique..	9
	5.1. Conséquences sur la santé publique.....	9
	5.1.1. Conséquences sur la santé.....	9
	5.1.2. Critères de gravité.....	10
	5.2. Conséquences sur l'entreprise.....	10
	5.2.1. Défaut de qualité du médicament.....	10
	5.2.2. Rappels de lots.....	10
	5.2.3. Pertes économiques.....	10
6.	Maitrise préventive de la contamination.....	11
	6.1. Approche de management et d'organisation.....	11
	6.2. Approche des 5 M.....	12
	6.2.1. Main d'œuvre (Personnel).....	12
	6.2.2. Milieu.....	13
	6.2.3. Matériel.....	14
	6.2.4. Matières.....	14
	6.2.5. Méthodes.....	14
7.	Maitrise curative de la contamination : Le nettoyage.....	14
	7.1. Définitions.....	15
	7.2. Objectifs.....	15
	7.3. Méthodes de nettoyage.....	15
	7.4. Mécanisme du nettoyage.....	17

## TABLE DES MATIERES

7.5.	Facteurs influençant le nettoyage.....	19
7.6.	Les agents de nettoyages.....	21
7.7.	Les dix (10) principes du nettoyage.....	23
7.8.	Traçabilité du nettoyage.....	24

### Chapitre II : Validation du nettoyage

1.	Historique.....	25
2.	Définitions.....	26
3.	Contextes réglementaires et normatifs.....	26
3.1.	Guides nationaux des bonnes pratiques de fabrication.....	27
3.2.	Guides régionaux.....	28
3.3.	Guides internationaux – Contexte d’harmonisation.....	29
3.4.	Autres guides.....	30
3.5.	Synthèse des évolutions réglementaires.....	30
4.	Différents types de validation.....	31
4.1.	Validation prospective.....	31
4.2.	Validation concomitante.....	31
4.3.	Validation rétrospective.....	31
5.	Prérequis à la validation du nettoyage.....	31
5.1.	Analyse des risques.....	31
5.2.	Rédaction des procédures de nettoyage.....	32
5.3.	Qualification du matériel et des agents de nettoyage.....	32
5.4.	Qualification des équipements.....	33
5.4.1.	Etablissement du cahier des charges de l’utilisateur.....	33
5.4.2.	Qualification de conception.....	33
5.4.3.	Qualification d’installation.....	33
5.4.4.	Qualification opérationnelle.....	34
5.4.5.	Qualification de performance.....	34
5.4.6.	Qualification périodique (requalification).....	34
5.5.	Habilitation du personnel.....	34
5.6.	Méthodes d’analyse et méthodes de prélèvement.....	34
6.	Acteurs de la validation du nettoyage.....	34
6.1.	Structures chargées du développement .....	34
6.2.	Structure chargée de la production.....	35
6.3.	Le laboratoire de contrôle qualité.....	35
6.4.	Structure chargée de l’assurance qualité.....	35
6.5.	Le Service Hygiène, Sécurité et Environnement.....	35
6.6.	La Direction Technique.....	35
7.	Stratégies de validation de nettoyage.....	36

### Chapitre III : Approches pires cas et validation du nettoyage

1.	Validation du nettoyage des équipements de fabrication pharmaceutique : Ancienne approche ou approche traditionnelle.....	38
1.1.	Choix du traceur.....	39
1.1.1.	Choix du traceur physicochimique.....	39

## TABLE DES MATIERES

1.1.1.1. Critère – Solubilité.....	39
1.1.1.2. Critère - Nettoyabilité.....	40
1.1.1.3. Critère – Toxicité.....	40
1.1.1.4. Critères de décision.....	40
1.1.2. Choix du traceur microbiologique.....	40
1.1.2.1. Aperçu sur les micro-organismes rencontrés dans la contamination microbienne.....	40
1.1.2.2. Notions de dénombrement microbien et de la recherche des germes spécifiés.....	41
1.1.2.3. Critères de sélection d'un produit pire cas en vue de l'analyse microbiologique.....	44
1.1.2.4. Critères de décision.....	44
1.2. Groupage des équipements et détermination des équipements pires cas.....	44
1.3. Etablissement des critères d'acceptation.....	44
1.3.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	45
1.3.1.1. Critères visuels.....	45
1.3.1.2. Critère des 10 ppm.....	45
1.3.1.3. Critère du 1/1000 <sup>ième</sup> .....	45
1.3.1.4. MACO (Maximal Allowable Carry Over).....	46
1.3.1.5. ARL (Acceptable Residual Level).....	47
1.3.2. Limites d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	48
1.4. Méthodes d'analyse.....	49
1.4.1. Méthodes d'analyses physicochimiques.....	49
1.4.1.1. Méthodes spécifiques.....	49
1.4.1.2. Méthodes non spécifiques.....	49
1.4.1.3. Avantages et inconvénients des méthodes analytiques.....	51
1.4.2. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	51
1.4.2.1. Méthode de filtration sur membrane.....	51
1.4.2.2. Méthode de dénombrement sur plaques.....	52
1.4.2.3. Autres méthodes d'analyses microbiologiques.....	52
1.5. Méthodes de prélèvements.....	53
1.5.1. Prélèvements en vue de l'analyse physicochimique.....	53
1.5.1.1. Prélèvement direct.....	53
1.5.1.2. Prélèvement indirect ou par solutions de rinçage.....	54
1.5.1.3. Prélèvement par placebo.....	54
1.5.2. Prélèvements en vue de l'analyse microbiologique.....	55
1.6. Mise au point de la méthodologie de prélèvement et de la méthode analytique.....	56
1.6.1. Détermination des rendements d'extraction et de récupération.....	57
1.6.2. Validation analytique de la méthode du dosage des traces de contaminants.....	58
1.7. Reproductibilité des procédés de nettoyage.....	59
1.8. Validation du temps écoulé entre la fabrication et le nettoyage (Durée maximale de l'état sale de l'équipement).....	59
1.9. Validation du temps écoulé entre le nettoyage et l'utilisation de l'équipement (Durée maximale de l'état propre de l'équipement).....	59
1.10. Revalidation et maîtrise des changements.....	59

## TABLE DES MATIERES

2. Validation du nettoyage des équipements de fabrication pharmaceutique : Nouvelle approche basée sur le risque santé et la détermination de l'Exposition Journalière Admissible – PDE (Permitted Daily Exposure).....	60
2.1. Exigences des PBF et approche PDE.....	60
2.2. Définition de la PDE.....	61
2.3. Justification du recours à l'usage de la PDE en validation de nettoyage.....	61
2.4. Détermination de l'Exposition Journalière Admissible (PDE).....	61
2.4.1. Identification des dangers liés à l'utilisation de la substance .....	62
2.4.2. Identification des effets critiques.....	62
2.4.3. Détermination des valeurs toxicologiques (NOEL, NOAEL et LOAEL).....	63
2.4.4. Utilisation des facteurs d'ajustement.....	64
2.4.5. Extrapolation aux autres voies d'administration.....	65
2.4.6. Cas particuliers.....	66
2.5. Stratégie des pires cas en validation du nettoyage basée sur l'utilisation de la PDE.....	67
2.5.1. Choix du traceur en analyse physicochimique basé sur la valeur de PDE... 67	
2.5.2. Etablissement des limites d'acceptations basées sur la valeur de PDE.....	67
2.6. Approche PDE et maîtrise des changements en validation du nettoyage.....	67
3. Cas particulier de la validation du nettoyage : Surfaces sans équipements – Validation du nettoyage d'une centrale de pesée.....	69
3.1. Choix du traceur physicochimique.....	69
3.2. Choix du traceur microbiologique.....	70
3.3. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	71
3.4. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	71
3.5. Plan de prélèvements.....	71

### Chapitre IV : Validation des procédures analytiques

1. Contexte réglementaire de la validation analytique.....	72
2. Définition et objectifs de la validation analytique.....	73
2.1. Définition.....	73
2.2. Objectifs de la validation analytique.....	74
3. Critères de validation.....	74
3.1. Définitions des critères de validation.....	74
3.2. Choix des critères de validation.....	76
3.3. Protocoles de validation.....	76
4. Etude statistique de la validation analytique.....	78
4.1. Spécificité.....	78
4.2. Fonction de réponse.....	79
4.3. Alignement des observations.....	80
4.4. Prédiction inverses.....	80
4.5. Calcul de la justesse et de la fidélité.....	81
4.6. Calcul de l'exactitude.....	83
4.7. Linéarité.....	85
4.8. Limites de quantifications.....	85
4.9. Robustesse.....	86
4.10. Stabilité des solutions.....	89

# TABLE DES MATIERES

## PARTIE EXPERIMENTALE

### CHAPITRE I : Validation du nettoyage d'une centrale de pesée

1. Matériel et méthodes .....	90
1.1. Matériel.....	90
1.1.1. Description de la CDP de Biopharm industrie.....	90
1.1.2. Matériel de contrôle.....	91
1.2. Méthodes.....	93
1.2.1. Choix du traceur.....	93
1.2.1.1. Choix du traceur physicochimique.....	93
1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique.....	96
1.2.2. Etablissement des critères d'acceptation.....	98
1.2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	98
A. Approche traditionnelle.....	98
B. Nouvelle approche basée sur la valeur de PDE.....	98
1.2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	99
1.2.3. Méthodes d'analyse.....	99
1.2.3.1. Méthode d'analyse physicochimique : Mise au point et validation de la méthode de dosage des traces de Kétoprofène.....	99
1.2.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	111
1.2.4. Détermination du taux de recouvrements du kétoprofène pour les prélèvements par écouvillonnage.....	114
1.2.4.1. Principe.....	114
1.2.4.2. Méthode.....	114
1.2.4.3. Critères d'acceptation.....	118
1.2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage.....	118
1.2.5.1. Méthode de nettoyage.....	118
1.2.5.2. Plan de prélèvements.....	118
1.2.5.3. Critères d'acceptation.....	119
2. Résultats et discussion.....	119
2.1. Choix du traceur.....	119
2.1.1. Choix du traceur physicochimique.....	119
2.1.2. Choix du traceur microbiologique.....	130
2.2. Etablissement des critères d'acceptation.....	135
2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	135
2.2.1.1. Approche traditionnelle.....	135
2.2.1.2. Approche basée sur le calcul de la PDE.....	136
2.2.1.3. Comparaison entre les valeurs obtenues avec les deux approches.....	136
2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	136
2.3. Résultats de la validation analytique du dosage de kétoprofène à l'état de traces...	136
2.3.1. Spécificité.....	137
2.3.2. Fonction de réponse.....	137
2.3.3. Justesse – Fidélité – Exactitude.....	144

## TABLE DES MATIERES

2.3.3.1. Alignement des réponses.....	144
2.3.3.2. Calcul des prédictions inverses.....	146
2.3.3.3. Justesse : Calcul du biais absolu, biais relatif et les recouvrements.....	148
2.3.3.4. Fidélité : Calcul des coefficients de variation de Répétabilité et de fidélité intermédiaire.....	148
2.3.3.5. Exactitude : Erreur totale et profil d'exactitude.....	149
2.3.3.6. Etablissement du profil d'exactitude.....	149
2.3.4. Intervalle de dosage.....	150
2.3.5. Linéarité.....	150
2.3.6. Robustesse.....	151
2.3.7. Stabilité des solutions.....	153
2.3.7.1. Stabilité des solutions du kétoprofène dans le passeur échantillon et à température ambiante.....	153
2.3.7.2. Stabilité des solutions de kétoprofène à température de réfrigération....	153
2.4. Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.....	154
2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage de la centrale de pesée.....	158
2.5.1. Inspection visuelle des équipements.....	158
2.5.2. Inspection visuelle des prélèvements.....	158
2.5.3. Analyse physicochimique : Dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage.....	159
2.5.4. Analyse microbiologique.....	160
2.5.5. Discussion.....	161
3. Conclusion.....	162

## CHAPITRE II : Validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel

1. Matériel et méthodes.....	164
1.1. Matériel.....	164
1.1.1. Description de la ligne crème et gel.....	164
1.1.2. Gamme production de la ligne crème et gel.....	164
1.1.3. Matériel de contrôle.....	165
1.2. Méthode.....	165
1.2.1. Choix du traceur.....	166
1.2.1.1. Choix du traceur physicochimique.....	166
A. Approche traditionnelle.....	166
B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE.....	168
1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique.....	170
1.2.2. Etablissement des critères d'acceptation.....	172
1.2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	172
A. Approche traditionnelle.....	172
B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE.....	173
1.2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	173
1.3. Méthodes d'analyse.....	173
1.3.1. Méthode d'analyse physicochimique de dosage du kétoprofène.....	173
1.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	174

## TABLE DES MATIERES

1.3.3. Méthode de recherche des traces du détergent.....	174
1.3.3.1. Principe.....	174
1.3.3.2. Réactifs.....	174
1.3.3.3. Mode et conditions opératoires.....	174
1.3.3.4. Interprétation des résultats.....	174
1.3.3.5. Critères d'acceptation.....	174
1.4. Détermination du taux de recouvrements du kétoprofène dans le prélèvement par écouvillonnage.....	175
1.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage.....	175
1.5.1. Méthode de nettoyage.....	175
1.5.2. Plan de prélèvements.....	175
1.5.3. Critères d'acceptation.....	176
1.5.3.1. Critères visuels.....	176
1.5.3.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	176
1.5.3.3. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	176
2. Résultats et discussion.....	176
2.1. Choix du traceur.....	176
2.1.1. Choix du traceur physicochimique.....	176
2.1.1.1. Approche traditionnelle.....	176
2.1.1.2. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE.....	178
2.1.2. Choix du traceur microbiologique.....	179
2.2. Etablissement des critères d'acceptation.....	179
2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	179
2.2.1.1. Approche traditionnelle.....	179
2.2.1.2. Approche basée sur le calcul de la PDE.....	184
2.2.1.3. Comparaison entre les valeurs obtenues avec les deux approches.....	186
2.2.2. Critères d'acceptation en en vue de l'analyse microbiologique.....	186
2.2.2.1. Contrôle des surfaces par écouvillonnage.....	186
2.2.2.2. Contrôle des eaux de rinçage.....	186
2.3. Méthodes d'analyse.....	186
2.3.1. Méthode d'analyse physicochimique.....	186
2.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	189
2.4. Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.....	189
2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage de la ligne crème et gel.....	191
2.5.1. Résultats de la validation du nettoyage de la ligne crème et gel.....	191
2.5.1.1. Inspection visuelle des équipements.....	191
2.5.1.2. Inspection visuelle des prélèvements.....	191
2.5.1.3. Analyse physicochimique : Dosage des traces de kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.....	192
2.5.1.4. Analyse microbiologique.....	196
2.5.1.5. Recherche de traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	198
2.5.2. Discussion.....	199
3. Conclusion .....	200

## TABLE DES MATIERES

### CHAPITRE III : Validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire

1. Matériel et méthodes.....	201
1.1. Matériel.....	201
1.1.1. Description de la ligne suppositoire.....	201
1.1.2. Gamme production de la ligne suppositoire.....	201
1.1.3. Matériel de contrôle.....	202
1.2. Méthodes.....	202
1.2.1. Choix du traceur.....	202
1.2.1.1. Choix du traceur physicochimique.....	202
A. Approche traditionnelle.....	203
B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE.....	203
1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique.....	203
1.2.2. Etablissement des critères d'acceptation.....	203
1.2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	203
1.2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	204
1.3. Méthodes d'analyse.....	204
1.3.1. Méthode d'analyse physicochimique du dosage de kétoprofène.....	204
1.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	204
1.3.3. Méthode de recherche des traces du détergent.....	204
1.3.3.1. Principe.....	204
1.3.3.2. Réactifs.....	204
1.3.3.3. Mode et conditions opératoires.....	205
1.3.3.4. Interprétation des résultats.....	205
1.3.3.5. Critères d'acceptation.....	205
1.4. Détermination du taux de recouvrements de kétoprofène pour le prélèvement par écouvillonnage.....	205
1.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage.....	205
1.5.1. Méthode de nettoyage.....	205
1.5.2. Plan de prélèvements.....	205
1.5.3. Critères d'acceptation.....	206
1.5.3.1. Critères visuels.....	206
1.5.3.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	206
1.5.3.3. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	206
2. Résultats et discussion.....	207
2.1. Choix du traceur.....	207
2.1.1. Choix du traceur physicochimique.....	207
2.1.1.1. Approche traditionnelle.....	207
2.1.1.2. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE.....	208
2.1.2. Choix du traceur microbiologique.....	209
2.2. Etablissement des critères d'acceptation.....	209
2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	209
2.2.1.1. Approche traditionnelle.....	209
2.2.1.2. Approche basée sur le calcul de la PDE.....	212
2.2.1.3. Comparaison entre les valeurs obtenues avec les deux approches.....	214

## TABLE DES MATIERES

2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	214
2.3. Méthodes d'analyse.....	214
2.3.1. Méthode d'analyse physicochimique du kétoprofène.....	214
2.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	217
2.4. Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.....	217
2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage de la ligne suppositoire.....	219
2.5.1. Résultats de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire.....	219
2.5.1.1. Inspection visuelle des équipements.....	219
2.5.1.2. Inspection visuelle des prélèvements.....	219
2.5.1.3. Analyse physicochimique : Dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.....	220
2.5.1.4. Analyse microbiologique.....	224
2.5.1.5. Recherche de traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	225
2.5.2. Discussion.....	226
3. Conclusion .....	227

### CHAPITRE IV : Validation du nettoyage des équipements de fabrication des formes sèches – Comprimés

1. Matériel et méthodes.....	228
1.1. Matériel.....	228
1.1.1. Description de la ligne des formes sèches – comprimés.....	228
1.1.2. Gamme production de la ligne de fabrication des formes sèches – comprimés.....	229
1.1.3. Matériel de contrôle .....	230
1.2. Méthodes.....	231
1.2.1. Choix du traceur.....	231
1.2.1.1. Choix du traceur physicochimique.....	231
A. Approche traditionnelle.....	231
B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE.....	231
1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique.....	232
1.2.2. Etablissement des critères d'acceptation.....	232
1.2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	232
1.2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	233
1.3. Méthodes d'analyse.....	233
1.3.1. Méthode d'analyse physicochimique de dosage du candesartan celixétil.....	233
1.3.1.1. Description de la méthode.....	233
1.3.1.2. Protocole de la validation analytique.....	233
1.3.2. Méthode d'analyse physicochimique du dosage d'irbesartan.....	238
1.3.2.1. Description de la méthode.....	238
1.3.2.2. Protocole de validation analytique.....	238
1.3.3. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	242
1.3.4. Méthode de recherche des traces du détergent.....	242
1.4. Détermination des taux de recouvrements pour les méthodes de prélèvement par écouvillonnage .....	243
1.4.1. Détermination du taux de recouvrements du candesartan celixétil .....	243

## TABLE DES MATIERES

1.4.2. Détermination du taux de recouvrements d'irbesartan.....	244
1.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage.....	246
1.5.1. Méthode de nettoyage.....	246
1.5.2. Plan de prélèvements.....	246
1.5.2.1. Plan de prélèvements – atelier de granulation.....	247
1.5.2.2. Plan de prélèvements – mélangeur octogonal.....	247
1.5.2.3. Plan de prélèvements – atelier de compression.....	247
1.5.2.4. Plan de prélèvements – atelier de pelliculage.....	248
1.5.2.5. Plan de prélèvements – atelier de conditionnement primaire.....	248
1.5.3. Critères d'acceptation.....	249
1.5.3.1. Critères visuels.....	249
1.5.3.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.....	249
1.5.3.3. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.....	249
2. Résultats et discussion.....	249
2.1. Choix du traceur .....	249
2.1.1. Choix du traceur en vue de l'analyse physicochimique.....	249
2.1.1.1. Approche traditionnelle.....	249
2.1.1.2. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE.....	259
2.1.2. Choix du traceur en vue de l'analyse microbiologique.....	263
2.2. Etablissement des critères d'acceptation .....	263
2.2.1. Critères d'acceptation en vue d'une analyse physicochimique.....	263
2.2.1.1. Approche traditionnelle.....	263
2.2.1.2. Approche basée sur le calcul de la PDE.....	268
2.2.1.3. Comparaison entre les valeurs obtenues avec les deux approches.....	269
2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique .....	271
2.2.2.1. Contrôle des surfaces par écouvillonnage.....	271
2.2.2.2. Contrôle des eaux de rinçage.....	271
2.3. Méthodes d'analyse.....	271
2.3.1. Méthode d'analyses physicochimiques.....	271
2.3.1.1. Dosage des traces de l'irbesartan.....	271
2.3.1.2. Dosage des traces du candesartan celixétil.....	275
2.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	279
2.4. Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.....	279
2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage.....	280
2.5.1. Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de granulation.....	281
2.5.1.1. Inspection visuelle des équipements.....	281
2.5.1.2. Inspection visuelle des prélèvements.....	281
2.5.1.3. Analyse physicochimique : Dosage des traces de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.....	283
2.5.1.4. Analyse microbiologique.....	287
2.5.1.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	288
2.5.2. Résultats de validation du nettoyage du mélangeur octogonal.....	288
2.5.2.1. Inspection visuelle de l'équipements.....	288
2.5.2.2. Inspection visuelle des prélèvements.....	288
2.5.2.3. Analyse physicochimique : Dosage des traces du candesartan celixétil dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.....	288

## TABLE DES MATIERES

2.5.2.4. Analyse microbiologique.....	291
2.5.2.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	291
2.5.3. Résultats de validation du nettoyage de l'atelier de compression.....	292
2.5.3.1. Inspection visuelle des équipements.....	292
2.5.3.2. Inspection visuelle des prélèvements.....	292
2.5.3.3. Analyse physicochimique : Dosage de traces du candesartan celixétel et de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.....	293
2.5.3.4. Analyse microbiologique.....	294
2.5.3.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	295
2.5.4. Résultats de validation du nettoyage de la pelliculeuse.....	296
2.5.4.1. Inspection visuelle des équipements.....	296
2.5.4.2. Inspection visuelle des prélèvements.....	296
2.5.4.3. Analyse physicochimique : Dosage de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.....	297
2.5.4.4. Analyse microbiologique.....	297
2.5.4.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	298
2.5.5. Résultats de validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire.....	298
2.5.5.1. Inspection visuelle des équipements.....	298
2.5.5.2. Inspection visuelle des prélèvements.....	298
2.5.5.3. Analyse physicochimique : Dosage de traces du candesartan celixétel dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.....	299
2.5.5.4. Analyse microbiologique.....	299
2.5.5.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	300
2.5.6. Discussion.....	301
3. Conclusion.....	302
Conclusion générale et perspectives.....	303
Annexes	
Références bibliographiques	
Résumé	

## LISTE DES ABREVIATIONS ET DES ACRONYMES

°C	Degré Celsius
µg	microgramme
µl	microlitre
AINS	Anti Inflammatoire Non Stéroïdien
AIS	Anti Inflammatoire Stéroïdien
AMM :	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé
API	Actif Pharmaceutical Ingredient
ARL	Acceptable Residual Level
BD	BioDisponibilité
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication
Bw	Boody weight (poids corporel)
cm <sup>2</sup>	Centimètre carré
CCU	Cahier des Charges de l'Utilisateur
CDER	Centre of Drug and Evaluation Research
CBER	Centre of Biological and Evaluation Research
CDP	Centrale De Pesée
CMC	Concentration Miscélaire Critique
CV	Coefficient de Variation
DGAT	Dénombrement des Germes Aérobie Total
DL 50	Dose Létale 50
DMLT	Dénombrement des Moisissures et des Levures Totales
EMA	European Medicines Agency
FDA	Food and Drug Administration
cGMP	current Good Manufacturing Practices
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie Liquide à Haute Performance)
ICH	International Conference on Harmonisation
Kg	Kilogramme
LAL	Lysat d'Améboocytes de Limules
LOD	Limit Of Detection
LOQ	Limite Of Quantification
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level
m <sup>2</sup>	mètre carré
MACO	Maximal Allowable CarryOver
MAR	Maximum Allowable Residual
mg	milligramme
ml	millilitre
NDA	New Drug Application
NEP	Nettoyage En Place
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NOEL	No Observed Effect Level
OEL	Occupational Exposure Level

## LISTE DES ABREVIATIONS ET DES ACRONYMES

<b>OMS</b>	<b>Organisation Mondiale de la Santé</b>
<b>PDE</b>	<b>Permitted Daily Exposure</b>
<b>ppm</b>	<b>partie par million</b>
<b>SE</b>	<b>Standard d'Étalonnage</b>
<b>QC</b>	<b>Qualification de Conception</b>
<b>QI</b>	<b>Qualification d'Installation</b>
<b>QO</b>	<b>Qualification Opérationnelle</b>
<b>QP</b>	<b>Qualification de Performance</b>
<b>SV</b>	<b>Standard de Validation</b>
<b>SDS</b>	<b>Safety Data Sheet (Fiche de Données de Sécurité)</b>
<b>SFSTP</b>	<b>Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques</b>
<b>T°</b>	<b>Température en degré Celsius</b>
<b>TAU</b>	<b>Test d'Acceptation en Usine</b>
<b>TAS</b>	<b>Test d'Acceptation sur Site</b>
<b>ufc</b>	<b>unité formant colonie</b>
<b>UV</b>	<b>Ultra Violet</b>
<b>VLEP</b>	<b>Valeur Limite d'Exposition Professionnelle</b>
<b>VTR</b>	<b>Valeur Toxicologique de Référence</b>
<b>ZAC</b>	<b>Zone d'Atmosphère Contrôlée</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Classification particulière des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée selon les BPF .....	4
<b>Tableau II</b> : Recommandations pour la surveillance microbiologique des zones à atmosphère contrôlée durant la production selon les BPF.....	5
<b>Tableau III</b> : Comparaison des différents types de nettoyage.....	17
<b>Tableau IV</b> : Différents types de détergents.....	21
<b>Tableau V</b> : Récapitulatif des évolutions règlementaires aux niveaux européen et Français.....	30
<b>Tableau VI</b> : Comparaison entre l'approche pire cas et l'approche cas par cas.....	37
<b>Tableau VII</b> : Termes descriptifs de la solubilité selon la pharmacopée européenne.....	39
<b>Tableau VIII</b> : Echelle de toxicité établie par Hodge et Sterner .....	40
<b>Tableau IX</b> : Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles .....	43
<b>Tableau X</b> : Principales techniques analytiques utilisées au cours de la validation du nettoyage	50
<b>Tableau XI</b> : Avantages et inconvénients des méthodes analytiques.....	51
<b>Tableau XII</b> : Avantages et inconvénients des méthodes microbiologiques.....	52
<b>Tableau XIII</b> : Comparaison des différents types de prélèvements.....	55
<b>Tableau XIV</b> : Calcul du rendement d'extraction et du taux de recouvrement par écouvillonnage.....	58
<b>Tableau XV</b> : Classification d'une substance pharmaceutique selon sa dangerosité.....	62
<b>Tableau XVI</b> : Définitions des critères de validation analytique.....	74
<b>Tableau XVII</b> : Caractéristiques à valider en fonction de la procédure analytique.....	76
<b>Tableau XVIII</b> : Choix du nombre des standards d'étalonnage et de validation en fonction du protocole retenu.....	78
<b>Tableau XIX</b> : Exemples de fonction de réponse.....	79
<b>Tableau XX</b> : Règles d'alignement pour différentes fonctions de réponse.....	80
<b>Tableau XXI</b> : Calcul des prédictions inverses pour différentes fonctions de réponse.....	81
<b>Tableau XXII</b> : Plan d'expérience pour l'étude de la robustesse.....	86
<b>Tableau XXIII</b> : Calcul de l'effet et de l'intervalle de confiance des paramètres A, B, C et de leurs interactions.....	88
<b>Tableau XXVI</b> : Liste du matériel de contrôle utilisé. Validation du nettoyage de la CDP.....	91
<b>Tableau XXV</b> : Liste de la verrerie utilisée. Validation du nettoyage de la CDP.....	91
<b>Tableau XXVI</b> : Liste des réactifs utilisés. Validation du nettoyage de la CDP.....	92
<b>Tableau XXVII</b> : Liste des matières premières utilisées. Validation du nettoyage de la CDP.....	92
<b>Tableau XXVIII</b> : Caractéristiques des écouvillons utilisées.....	92
<b>Tableau XXIX</b> : Echelle de la nature d'une matière première pour le choix du traceur physicochimique. Validation du nettoyage de la CDP.....	93
<b>Tableau XXX</b> : Echelle de l'état physique d'une matière première pour le choix du traceur physicochimique. Validation du nettoyage de la CDP.....	93
<b>Tableau XXXI</b> : Echelle de solubilité d'une matière première pour le choix du traceur physicochimique. Validation du nettoyage de la CDP.....	94
<b>Tableau XXXII</b> : Echelle de nettoyabilité.....	94
<b>Tableau XXXIII</b> : Echelle de toxicité.....	94
<b>Tableau XXXIV</b> : Echelle de volatilité d'une matière première pour le choix du traceur physicochimique. Validation du nettoyage de la CDP.....	95
<b>Tableau XXXV</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée.....	95
<b>Tableau XXXVI</b> : Echelle de DGAT.....	96

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau XXXVII</b> : Echelle de la DLMT.....	96
<b>Tableau XXXVIII</b> : Choix du traceur microbiologique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée.....	97
<b>Tableau XXXIX</b> : Préparation de la gamme de concentrations du kétoprofène.....	101
<b>Tableau XL</b> : Préparation des gammes standards.....	104
<b>Tableau XLI</b> : Nombre de standards d'étalonnage par niveau de concentration.....	105
<b>Tableau XLII</b> : Nombre de standards de validation par niveau de concentration.....	106
<b>Tableau XLIII</b> : Changement des paramètres pour l'étude de la robustesse.....	108
<b>Tableau XLIV</b> : Plan d'expérience pour l'étude de la robustesse du dosage de kétoprofène par HPLC.....	108
<b>Tableau XLV</b> : Plan de prélèvements au cours de la validation du nettoyage de la centrale de pesée.....	118
<b>Tableau XLVI</b> : Critères de sélection du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée - Base de données.....	120
<b>Tableau XLVII</b> : Critères de sélection du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée – Cotation des critères.....	126
<b>Tableau XLVIII</b> : Critères de sélection du traceur microbiologique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée - Base de données.....	130
<b>Tableau XLIX</b> : Critères de sélection du traceur microbiologique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée – Cotation des critères.....	134
<b>Tableau L</b> : Aires de pic du kétoprofène obtenus à partir des SE et des SV.....	138
<b>Tableau LI</b> : Résultats obtenus pour la fonction $y = ax + b$ .....	139
<b>Tableau LII</b> : Résultats obtenus pour la fonction $y = ax$ .....	140
<b>Tableau LIII</b> : Résultats obtenus pour la fonction $\sqrt{y} = f\sqrt{x}$ .....	141
<b>Tableau LIV</b> : Résultats obtenus pour la fonction $\ln y = f(\ln x)$ .....	142
<b>Tableau LV</b> : Choix de la fonction de réponse.....	143
<b>Tableau LVI-A</b> : Alignement des réponses des SV – Moyenne des concentrations.....	144
<b>Tableau LVI-B</b> : Alignement des réponses des SV – Série 01.....	144
<b>Tableau LVI-C</b> : Alignement des réponses des SV – Série 02.....	145
<b>Tableau LVI-D</b> : Alignement des réponses des SV – Série 03.....	145
<b>Tableau LVII-A</b> : Calcul des prédictions inverses – Série 01.....	146
<b>Tableau LVII-B</b> : Calcul des prédictions inverses – Série 02.....	146
<b>Tableau LVII-C</b> : Calcul des prédictions inverses – Série 03.....	147
<b>Tableau LVIII</b> : Résumé, concentrations introduites – concentrations prédites.....	147
<b>Tableau LIX</b> : Calcul du biais absolu, biais relatifs et des recouvrements.....	148
<b>Tableau LX</b> : Calcul des écarts types de répétabilité et de fidélité inter-série.....	148
<b>Tableau LXI</b> : Calcul des CV de répétabilité et de fidélité intermédiaire.....	148
<b>Tableau LXII-A</b> : Calcul de l'erreur totale absolue et de l'erreur totale relative.....	149
<b>Tableau LXII-B</b> : Calcul des intervalles de confiance par niveau de concentration.....	149
<b>Tableau LXIII</b> : Caractéristiques de la droite de régression linéaire – linéarité.....	150
<b>Tableau LXIV</b> : Plan d'expérience $2^3$ pour l'étude de la robustesse.....	151
<b>Tableau LXV</b> : Données brutes et les calculs des réponses du paramètre robustesse.....	152
<b>Tableau LXVI</b> : Calcul de l'intervalle de confiance des effets des paramètres.....	152
<b>Tableau LXVII-A</b> : Résultats de l'étude de stabilité des solutions de kétoprofène dans le passeur échantillon et à température ambiante.....	153
<b>Tableau LXVII-B</b> : Résultats de l'étude de stabilité des solutions de kétoprofène à température de réfrigération.....	153

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau LXVIII</b> : Calcul des rendements d'extraction pour la méthode de prélèvement par écouvillonnage.....	155
<b>Tableau LXIX</b> : Calcul des taux de recouvrements pour la méthode de prélèvement par écouvillonnage.....	156
<b>Tableau LXX</b> : Moyennes des rendements d'extraction et des taux de recouvrement.....	157
<b>Tableau LXXI</b> : Résultats de l'inspection visuelle des balances et des surfaces de la centrale de pesée (Séries : 1, 2 et 3) après pesée du kétoprofène et de l'alginate de sodium matières premières et nettoyage de la centrale de pesée.....	158
<b>Tableau LXXII</b> : Résultats de l'inspection visuelle des écouvillons après pesée du kétoprofène et de l'alginate de sodium matières premières, nettoyage et prélèvement des balances et des surfaces de la centrale de pesée – (Séries : 1, 2 et 3).....	158
<b>Tableau LXXIII</b> : Résultats de dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage. Validation du nettoyage de la CDP (Séries: 1, 2 et 3).....	160
<b>Tableau LXXIV</b> : Dénombrement microbien et recherche des germes spécifiés dans le prélèvements par écouvillonnage et boîtes de contact après pesée de l'alginate de sodium et nettoyage des balances et des surfaces de la centrale de pesée.....	161
<b>Tableau LXXV</b> : Gamme de production de la ligne crème et gel.....	165
<b>Tableau LXXVI</b> : Echelle de solubilité pour le choix du traceur physicochimique.....	166
<b>Tableau LXXVII</b> : Démarche quantitative pour le choix du traceur physicochimique.....	168
<b>Tableau LXXVIII</b> : Echelle de toxicité (dangerosité) basée sur les valeurs de PDE.....	168
<b>Tableau LXXIX</b> : Démarche quantitative pour le choix du traceur physicochimique selon l'approche PDE.....	169
<b>Tableau LXXX</b> : Démarche quantitative pour le choix du traceur microbiologique.....	172
<b>Tableau LXXXI</b> : Mode et conditions opératoires de la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	174
<b>Tableau LXXXII</b> : Interprétation des résultats de la méthode de recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage.....	174
<b>Tableau LXXXIII</b> : Plan de prélèvements au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel.....	175
<b>Tableau LXXXIV</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel selon l'approche traditionnelle – base de données.....	177
<b>Tableau LXXXV</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel selon l'approche traditionnelle – cotation des critères.....	177
<b>Tableau LXXXVI</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel selon l'approche PDE – cotation des critères.....	178
<b>Tableau LXXXVII</b> : Valeurs de T <sub>A</sub> et T <sub>B</sub> des produits de la ligne crème et gel.....	180
<b>Tableau LXXXVIII</b> : Doses minimales et maximales et les tailles des lots des produits fabriqués sur la ligne crème et gel.....	181
<b>Tableau LXXXIX</b> : Calcul des MAR Produit précédent – Produit suivant.....	181
<b>Tableau XC</b> : Caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et la méthodologie de calcul de la valeur de PDE du clobetasol propionate.....	185
<b>Tableau XCI</b> : Données de la linéarité de la méthode du dosage de kétoprofène.....	186

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau CXII</b> : Résultats de l'inspection visuelle des équipements de la ligne suppositoire – Jours 1, 2 et 3.....	187
<b>Tableau XCIII</b> : Données brutes pour la détermination de la LOD et la LOQ de la méthode de dosage de kétoprofène.....	188
<b>Tableau XCIV</b> : Détermination des rendements d'extraction de la méthode de prélèvement par écouvillonnage du kétoprofène – validation de nettoyage de la ligne crème et gel.....	190
<b>Tableau XCV</b> : Résultats de l'inspection visuelle des équipements de la ligne crème et gel.....	191
<b>Tableau XCVI</b> : Résultats de l'inspection visuelle des écouvillons après prélèvement des équipements de la ligne crème et gel – Jours 1,2 et 3.....	192
<b>Tableau XCVII</b> : Résultats de l'inspection visuelle des eaux de rinçage après prélèvement des équipements de la ligne crème et gel – Jours 1,2 et 3.....	192
<b>Tableau XCVIII</b> : Validation du nettoyage de la ligne crème et gel : Dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jours 1,2 et 3.....	195
<b>Tableau XCIX</b> : Validation du nettoyage de la ligne crème et gel : Dosage des traces du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jours 1,2 et 3.....	196
<b>Tableau C</b> : Résultats de la validation de nettoyage de la ligne crème et gel. Analyses microbiologiques. Prélèvements par écouvillonnage, Jours 1,2 et 3.....	197
<b>Tableau CI</b> : Résultats de la validation de nettoyage Ligne crème et gel. Analyses microbiologiques – Prélèvement par eaux de rinçage, Jours 1,2 et 3.....	198
<b>Tableau CII</b> : Résultats de la validation de nettoyage de la ligne crème et gel. Recherche des traces du détergent – Jours 1,2 et 3.....	199
<b>Tableau CIII</b> : Gamme de production de la ligne suppositoire.....	202
<b>Tableau CIV</b> : Mode et conditions opératoires pour la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage (ligne suppositoire).....	205
<b>Tableau CV</b> : Interprétation des résultats de la méthode de recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage (ligne suppositoire).....	205
<b>Tableau CVI</b> : Plan de prélèvements au cours de la validation de nettoyage des équipements de la ligne suppositoire.....	206
<b>Tableau CVII</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation nettoyage des équipements de la ligne suppositoire selon l'approche traditionnelle – base de données.....	207
<b>Tableau CVIII</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation de nettoyage des équipements de la ligne suppositoire selon l'approche traditionnelle– cotation des critères.....	208
<b>Tableau CIX</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation des équipements de la ligne suppositoire selon l'approche basée sur la PDE.....	208
<b>Tableau CX</b> : Valeurs de $T_A$ et $T_B$ des produits de la ligne suppositoire.....	210
<b>Tableau CXI</b> : Doses minimales et maximales et les tailles des lots des produits fabriqués sur la ligne suppositoire.....	211
<b>Tableau CXII</b> : Caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et la méthodologie de calcul de la valeur de PDE du kétoprofène.....	213
<b>Tableau CXIII</b> : Données de la linéarité de la méthode de dosage de kétoprofène.....	214
<b>Tableau CXIV</b> : Répétabilité de la méthode de dosages de traces de kétoprofène.....	215
<b>Tableau CXV</b> : Données brutes pour la détermination de la LOD et la LOQ de la méthode de dosage de kétoprofène.....	216

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau CXVI</b> : Détermination des rendements d'extraction de la méthode de prélèvement par écouvillonnage du kétoprofène – validation de nettoyage de la ligne suppositoire.....	218
<b>Tableau CXVII</b> : Résultats de l'inspection visuelle des équipements de la ligne suppositoire – Jours 1, 2 et 3.....	219
<b>Tableau CXVIII</b> : Résultats de l'inspection visuelle des écouvillons après prélèvement des équipements de la ligne suppositoire – Jours 1,2 et 3.....	220
<b>Tableau CXIX</b> : Résultats de l'inspection visuelle des eaux de rinçage après prélèvement des équipements de la ligne suppositoire – Jour 1,2 et 3.....	220
<b>Tableau CXX</b> : Validation du nettoyage de la ligne suppositoire : Dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jours 1,2 et 3.....	222
<b>Tableau CXXI</b> : Validation du nettoyage de la ligne suppositoire: Dosage des traces du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jours 1,2 et 3.....	223
<b>Tableau CXXII</b> : Résultats de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire. Analyse microbiologique. Prélèvement par écouvillonnage, jours 1,2 et 3.....	224
<b>Tableau CXXIII</b> : Résultats de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire. Analyse microbiologique – Prélèvement par les eaux de rinçage, jours 1, 2 et 3.....	225
<b>Tableau CXXIV</b> : Résultats de la validation de nettoyage de la ligne suppositoire. Recherche des traces du détergent – Jours 1, 2 et 3.....	226
<b>Tableau CXXV</b> : Gamme de production de la ligne des formes sèches – comprimés.....	229
<b>Tableau CXXVI</b> : Cotation du critère dangerosité des produits fabriqués sur la ligne des formes sèches – comprimés - selon les valeurs de la PDE.....	232
<b>Tableau CXXVII</b> : Plan de prélèvements de l'atelier de granulation.....	247
<b>Tableau CXXVIII</b> : Plan de prélèvements de l'atelier de compression.....	248
<b>Tableau CXXIX</b> : Plan de prélèvements de la pelliculeuse.....	248
<b>Tableau CXXX</b> : Plan de prélèvements de l'atelier de conditionnement primaire.....	249
<b>Tableau CXXXI</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Atelier de granulation.....	250
<b>Tableau CXXXII</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Mélangeur octogonal.....	251
<b>Tableau CXXXIII</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Atelier de compression.....	252
<b>Tableau CXXXIV</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Pelliculeuse .....	253
<b>Tableau CXXXV</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Atelier de compression .....	254
<b>Tableau CXXXVI</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Atelier de granulation.....	255
<b>Tableau CXXXVII</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Mélangeur octogonal.....	256

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau CXXXVIII</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Atelier de compression.....	256
<b>Tableau CXXXIX</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Pelliculeuse.....	257
<b>Tableau CXL</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Atelier de conditionnement primaire.....	258
<b>Tableau CXLI</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères. Atelier de granulation.....	259
<b>Tableau CXLII</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères. Mélangeur octogonal.....	260
<b>Tableau CXLIII</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères. Atelier de compression.....	260
<b>Tableau CXLIV</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères. Pelliculeuse.....	261
<b>Tableau CXLV</b> : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères. Atelier de conditionnement primaire.....	262
<b>Tableau CXLVI</b> : Valeurs de $T_A$ , $T_B$ et $L_B$ des produits de la ligne de fabrication des comprimés – Atelier de granulation et pelliculeuse.....	264
<b>Tableau CXLVII</b> : Valeurs de $T_A$ , $T_B$ et $L_B$ des produits de la ligne de fabrication des comprimés – mélangeur octogonal, ateliers de compression et de conditionnement primaire.....	266
<b>Tableau CXLVIII</b> : Caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et méthodologie de calcul de la valeur de PDE de la risperidone.....	270
<b>Tableau CXLIX</b> : Données de la linéarité de la méthode de dosage de l'irbesartan.....	272
<b>Tableau CL</b> : Répétabilité de la méthode de dosages de traces d'irbesartan.....	273
<b>Tableau CLI</b> : Données brutes pour la détermination de la LOD et la LOQ de la méthode de dosage de l'irbesartan.....	274
<b>Tableau CLII</b> : Stabilité des solutions d'irbesartan.....	275
<b>Tableau CLIII</b> : Données la linéarité de la méthode de dosage du candesartan celixétil.....	276
<b>Tableau CLIV</b> : Répétabilité de la méthode de dosages de traces du candesartan celixétil.....	277
<b>Tableau CLV</b> : Données brutes pour la détermination de la LOD et de la LOQ de la méthode de dosage du candesartan celixétil.....	278
<b>Tableau CLVI</b> : Stabilité des solutions du candesartan celixétil.....	279
<b>Tableau CLVII</b> : Détermination des taux de recouvrement des méthodes de prélèvement par écouvillonnage du candesartan celixétil et d'irbesartan - validation de nettoyage des équipements de fabrication des comprimés.....	280
<b>Tableau CLVIII</b> : Résultats de l'inspection visuelle des équipements de granulation. Jours 1, 2 et 3.....	281

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau CLIX</b> : Résultats de l'inspection visuelle des écouvillons après prélèvement des équipements de granulation. Jours 1,2 et 3.....	282
<b>Tableau CLX</b> : Résultats de l'inspection visuelle des eaux de rinçage après prélèvement des équipements de granulation. Jour 1,2 et 3.....	282
<b>Tableau CLXI</b> : Résultats de la validation du nettoyage des équipements de granulation : Dosage des traces d'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage – Jours 1, 2 et 3.....	284
<b>Tableau CLXII</b> : Résultats de la validation du nettoyage des équipements de granulation : Dosage des traces d'irbesartan dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3.....	286
<b>Tableau CLXIII</b> : Résultats de la validation de nettoyage des équipements de granulation. Analyses microbiologiques dans les prélèvements par écouvillonnage, jours 1, 2 et 3.....	287
<b>Tableau CLXIV</b> : Résultats de la validation de nettoyage des équipements de granulation. Analyses microbiologiques dans les eaux de rinçage, jours 1, 2 et 3.....	287
<b>Tableau CLXV</b> : Résultats de la validation de nettoyage des équipements granulation. Recherche de traces de détergent – Jours 1, 2 et 3.....	288
<b>Tableau CLXVI</b> : Résultats de la validation de nettoyage du mélangeur octogonal : Dosage des traces du candesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage.....	290
<b>Tableau CLXVII</b> : Validation du nettoyage du mélangeur octogonal : dénombrement microbien dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage– Jours 1, 2 et 3.....	291
<b>Tableau CLXVIII</b> : Résultats de la validation de nettoyage du mélangeur octogonal. Recherche de traces de détergent dans les eaux de rinçage.....	291
<b>Tableau CLXIX</b> : Résultats de l'inspection visuelle de l'atelier de compression. Jours 1, 2 et 3.....	292
<b>Tableau CLXX</b> : Résultats de l'inspection visuelle des prélèvements de l'atelier de compression. Jours 1, 2 et 3.....	292
<b>Tableau CLXXI</b> : Résultats de la validation de nettoyage de l'atelier de compression : Dosage du candesartan celixétel et de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage – Jours 1, 2 et 3.....	293
<b>Tableau CLXXII</b> : Résultats de la validation de nettoyage de l'atelier de compression : Dosage du candesartan celixétel et de l'irbesartan dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3.....	294
<b>Tableau CLXXIII</b> : Validation du nettoyage de l'atelier de compression : Dénombrement microbien dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage– Jours 1, 2 et 3.....	295
<b>Tableau CLXXIV</b> : Résultats de la validation de nettoyage de l'atelier de compression. Recherche de traces de détergent – Jours 1, 2 et 3.....	296
<b>Tableau CLXXV</b> : Résultats de l'inspection visuelle de l'atelier de pelliculage. Jours 1, 2 et 3.....	296
<b>Tableau CLXXVI</b> : Résultats de l'inspection visuelle des prélèvements de l'atelier de pelliculage. Jours 1, 2 et 3.....	296
<b>Tableau CLXXVII</b> : Résultats de la validation de nettoyage de l'atelier du pelliculage : Dosage de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3.....	297

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau CLXXVIII</b> : Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de pelliculage : dénombrement microbien dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage– Jours 1, 2 et 3.....	297
<b>Tableau CLXXIX</b> : Résultats de validation du nettoyage de l'atelier de pelliculage. Recherche de traces du détergent dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3.....	298
<b>Tableau CXXX</b> : Résultats de l'inspection visuelle de l'atelier de conditionnement primaire, jours 1, 2 et 3.....	298
<b>Tableau CLXXXI</b> : Résultats de l'inspection visuelle des prélèvements de l'atelier de conditionnement primaire. Jours 1, 2 et 3.....	299
<b>Tableau CLXXXII</b> : Résultats de validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire : Dosage du candesartan celixétel dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3.....	299
<b>Tableau CLXXXIII</b> : Résultats de validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire : Dénombrement microbien dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage– Jours 1, 2 et 3.....	300
<b>Tableau CLXXXIV</b> : Résultats de validation de nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire. Recherche des traces du détergent – Jours 1, 2 et 3.....	300

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> : Triangle de contamination.....	7
<b>Figure 02</b> : Diagramme des 5 M représentant les sources de la contamination.....	7
<b>Figure 03</b> : Processus de la contamination.....	9
<b>Figure 04</b> : Le model iceberg illustrant le processus de la contamination.....	11
<b>Figure 05</b> : Tête rotative utilisée pour le NEP.....	16
<b>Figure 06</b> : Interactions au cours du nettoyage.....	18
<b>Figure 07</b> : Schématisation de l'action du détergent sur une souillure.....	18
<b>Figure 08</b> : Mécanisme de déplacement de la souillure.....	19
<b>Figure 09</b> : Cercle de SINNER.....	21
<b>Figure 10</b> : Choix du détergent en fonction de type de la souillure.....	22
<b>Figure 11</b> : Technique de prélèvement physicochimique par écouvillonnage.....	54
<b>Figure 12</b> : Etapes de mise au point de la méthodologie de prélèvement par écouvillonnage....	56
<b>Figure 13</b> : Courbe dose – réponse et détermination des valeurs de NOEL, NOAEL et LOAEL..	63
<b>Figure 14</b> : Démarche à suivre dans l'application de l'approche PDE pour un nettoyage déjà valide.....	68
<b>Figure 15</b> : Choix d'un protocole de validation.....	77
<b>Figure 16</b> : Schéma de la centrale de pesée de Biopharm industrie.....	90
<b>Figure 17</b> : Etapes de préparation de la gamme D'étalonnage du kétoprofène.....	101
<b>Figure 18</b> : Protocole d'étude de la stabilité des solutions au cours de la validation analytique du dosage de kétoprofène.....	109
<b>Figure 19</b> : Chromatogrammes du paramètre spécificité.....	137
<b>Figure 20</b> : Courbe d'étalonnage obtenue pour la fonction $y = ax + b$ .....	139
<b>Figure 21</b> : Courbe d'étalonnage obtenue pour la fonction $y = ax$ .....	140
<b>Figure 22</b> : Courbe d'étalonnage obtenue pour la fonction $\sqrt{y} = f(\sqrt{x})$ .....	141
<b>Figure 23</b> : Courbe d'étalonnage obtenue pour la fonction $\ln y = f(\ln x)$ .....	142
<b>Figure 24</b> : Profil d'exactitude en considérant la régression linéaire $y = ax + b$ .....	149
<b>Figure 25</b> : Droite de régression : Concentration prédites =f(concentrations introduites).....	157
<b>Figure 26</b> : Droite d'étalonnage – Aire du pic de kétoprofène = f(concentration), séries1, 2 et 3..	159
<b>Figure 27</b> : Schéma de la ligne crème et gel.....	164
<b>Figure 28</b> : Démarche qualitative pour le choix du traceur (produit pire cas) physicochimique selon l'approche traditionnelle.....	167
<b>Figure 29</b> : Démarche qualitative pour le choix du traceur (produit pires cas) physicochimique selon l'approche PDE.....	169
<b>Figure 30</b> : Démarche qualitative choix du traceur (produit pires cas) microbiologique.....	171
<b>Figure 31</b> : Linéarité –Droite d'étalonnage - Aire du pic de kétoprofène = f(concentration).....	187
<b>Figure 32</b> : Droite d'étalonnage – Hauteur du pic de kétoprofène = f(concentration).....	188
<b>Figure 33</b> : Droite d'étalonnage – Aire du pic de kétoprofène = f(concentration), jours 1, 2 et 3	193
<b>Figure 34</b> : Linéarité –Droite d'étalonnage - Aire du pic de kétoprofène = f(concentration).....	215
<b>Figure 35</b> : Droite d'étalonnage - Hauteur du pic de kétoprofène = f(concentration).....	216
<b>Figure 36</b> : Droite d'étalonnage – Aire du pic de kétoprofène = f(concentration), jours 1, 2 et 3..	221
<b>Figure 37</b> : Chromatogrammes obtenus pour le paramètre spécificité – Méthode du dosage de l'irbesartan par HPLC.....	272
<b>Figure 38</b> : Linéarité –Droite d'étalonnage - Aire du pic de l'irbesartan = f(concentration).....	273
<b>Figure 39</b> : Droite d'étalonnage - Hauteur du pic d'irbesartan = f(concentration).....	274

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 40</b> : Chromatogrammes obtenus pour le paramètre spécificité – Méthode de dosage du candesartan celixétel par HPLC.....	276
<b>Figure 41</b> : Linéarité – Droite d'étalonnage - Aire du pic du candesartan celixétel = f(concentration).....	277
<b>Figure 42</b> : Droite d'étalonnage - Hauteur du pic du candesartan = f(concentration).....	278
<b>Figure 43</b> : Droite d'étalonnage – Aire du pic d'irbesartan = f(concentration).....	283
<b>Figure 44</b> : Droite d'étalonnage - Aire du pic de candesartan célexitil = f(concentration) jours 1, 2 et 3.....	289

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

L'histoire de l'industrie pharmaceutique a connu plusieurs incidents plus ou moins dramatiques liés à la contamination des médicaments et qui ont causé des problèmes de santé publique, ces incidents ont fait prendre conscience aux industriels et aux autorités de l'importance du nettoyage des équipements de production. Aujourd'hui, le médicament est l'un des produits les plus contrôlés et les plus sécurisés dans un secteur industriel où la réglementation est de plus en plus exigeante [1].

Le personnel et les équipements de production sont en contact direct avec les produits en cours de leur fabrication, ils sont les sources potentielles de la contamination.

Le risque de contamination des produits pharmaceutiques doit être connu et maîtrisé, et inscrit dans une approche globale de gestion des risques. Le nettoyage est le processus qui fiabilise l'élimination des contaminations d'origine diverses et garantit ainsi la qualité des médicaments fabriqués.

Le nettoyage des équipements, fait donc partie intégrante du procédé de fabrication et comme toute opération pharmaceutique, il doit **faire objet de validation** et ce, conformément aux exigences réglementaires ainsi qu'aux directives des bonnes pratiques de fabrication [2].

Appliquée au domaine pharmaceutique, la validation du nettoyage contribue à la sécurité, à l'efficacité et à l'acceptabilité des médicaments. Chaque entreprise pharmaceutique se doit donc de concevoir et de mettre en œuvre une politique visant à garantir que les médicaments fabriqués aient la qualité requise.

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

De point de vue réglementaire, la validation du nettoyage est devenue une exigence primordiale pour toutes les installations pharmaceutiques. De nombreux textes à portées nationales, régionales et internationales ont été édictés par des autorités de santé. Les récentes versions des guides des bonnes pratiques de fabrication exigent aux industriels d'axer leur démarche de validation du nettoyage sur la sécurité du patient en évaluant le risque de la contamination sur la santé humaine [2].

Au mois de novembre 2014, l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) a publié une ligne directrice relative à l'établissement des limites d'exposition, basée sur le **risque santé**, en définissant une dose journalière de contaminant à laquelle peut-être exposé un être humain pendant toute sa vie et cela sans entraîner des effets néfastes sur sa santé, cette dose est appelée "Exposition Journalière Admissible" ou "Permitted Daily Exposure" abrégée par l'acronyme PDE.

## INTRODUCTION

L'approche PDE décrite dans cette ligne directrice, est un nouveau paradigme qui est entrain de révolutionner la pratique actuelle de la validation du nettoyage et remodèle celle de l'avenir. Cette ligne directrice **place la sécurité du patient** au centre de la validation du nettoyage en intégrant l'ensemble des données pharmacologiques et toxicologiques issues des différentes phases des études précliniques et cliniques de développement du médicament. En Europe, cette nouvelle approche est entrée en application à partir du mois de juin 2015.

En Algérie, ce sujet d'actualité est d'introduction récente pour les industries pharmaceutiques, l'autorité de santé, en l'occurrence, le Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, exige aux industriels que le nettoyage de leurs équipements de production soit valide. Des travaux ont été réalisés par des entreprises mais nécessitent des efforts supplémentaires pour acquérir plus de savoir-faire et de mettre en œuvre la nouvelle approche de validation du nettoyage telle qu'exigée par les BPF européennes.

La démarche de validation du nettoyage basée sur le concept de la PDE, requiert une parfaite connaissance des propriétés physicochimiques, pharmacologiques et toxicologiques des substances actives. L'exploitation des données qui en découlent relève du domaine de l'expertise et est réservée aux professionnels les plus expérimentés. Ceci rend la maîtrise de cette approche peu accessible aux acteurs de la validation du nettoyage, ce qui constitue toute la problématique dans la pratique courante.

L'objectif principal de cette thèse, est d'appliquer la stratégie des pires cas à la validation du nettoyage des équipements dans un site multiproduits en introduisant le nouveau concept de la PDE, telle qu'est recommandé par la ligne directrice de l'EMA et les récentes versions des guides des bonnes pratiques de fabrication. Cette initiative concerne dans un premier temps en la maîtrise de l'approche PDE, et dans un second temps à sa généralisation en analyse de routine pour qu'elle soit à la portée des utilisateurs en industrie pharmaceutique.

Outre cet objectif principal, nous étudierons la validation du nettoyage des équipements de fabrication des différentes formes pharmaceutiques (crèmes, gels, pommades, suppositoires et comprimés), de la centrale de pesée des matières premières tout en développant des méthodologies pour le choix des traceurs physicochimiques et microbiologiques.

Enfin, nous appliquerons la démarche harmonisée de la validation analytique pour une méthode de dosage des traces de contaminant telle que préconisée par la commission de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques – (SFSTP) et le guide ICH relatif à la validation des procédures analytiques.

Afin d'atteindre ces objectifs, Ce travail est structuré en deux parties :

La première partie est bibliographique, elle documente la maîtrise de la contamination et les différentes stratégies de validation du nettoyage en industrie pharmaceutique.

## INTRODUCTION

Ce travail étant focalisé sur les stratégies de validation du nettoyage des équipements de fabrication pharmaceutique dans un site multiproduits en se conformant aux nouvelles exigences réglementaires. Afin de cerner la thématique dans toutes ses dimensions, nous avons décomposé la partie bibliographique en quatre chapitres ;

- Le premier chapitre traite la contamination, ses enjeux et les moyens de lutte. Dans ce chapitre nous évoquerons les notions de base et les facteurs régissant la contamination en industrie pharmaceutique ainsi que les moyens de lutte préventifs et curatifs mis en place.
- Le deuxième chapitre documente la validation du nettoyage dans ses aspects réglementaire et méthodologique. Nous passerons en revue l'ensemble des réglementations relatives à la validation du nettoyage et nous donnerons ensuite un aperçu sur l'évolution de ces réglementations.
- Le troisième chapitre définit l'ensemble des approches pires cas décrites dans la littérature scientifique, il détaille les méthodologies et les démarches pratiques à suivre pour valider le nettoyage d'une ligne de fabrication. Une attention remarquable sera accordée à la nouvelle approche basée sur le risque santé et le calcul de la PDE. Un cas particulier de surfaces sans équipements sera traité à savoir ; la validation du nettoyage d'une **centrale de pesée** de matières premières.
- Enfin, et compte tenu de l'importance des méthodes analytiques pour le dosage des traces de contaminants au cours de la validation du nettoyage, la validation des méthodes analytiques conformément à la démarche harmonisée sera développée dans le quatrième chapitre. Nous traiterons dans un premier lieu les définitions et les critères de validation, et dans un deuxième lieu, nous aborderons les protocoles et l'étude statistique de la validation analytique.

La seconde partie expérimentale est consacrée à la validation du nettoyage des différentes lignes de fabrication par la méthode des pires cas, selon l'approche traditionnelle et celle basée sur la valeur de la PDE. Une étude comparative sera réalisée pour chaque ligne de fabrication et l'approche la plus stricte sera retenue. La validation du nettoyage de la centrale de pesée sera aussi évoquée étant donné qu'elle constitue le premier siège de contamination des matières premières utilisées dans la fabrication des médicaments.

Nous finaliserons ce manuscrit en discutant nos résultats, suivis des conclusions qui en découlent et en présentant nos propositions en matière de démarche pratique quant à l'application de l'approche PDE à la validation du nettoyage. Enfin, nous exposerons les perspectives émanant de la présente thèse.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHAPITRE I**

**LA CONTAMINATION EN INDUSTRIE  
PHARMACEUTIQUE : LES ENJEUX ET LES MOYENS DE  
LUTTE**

Au cours d'un procédé de fabrication, un médicament est sujet à diverses contaminations volontaires ou involontaires, de sources et de natures différentes. Pour cette raison, des moyens de lutte sont aujourd'hui mis en place en industrie pharmaceutique afin de maîtriser la contamination et de garantir en conséquence la qualité des médicaments commercialisés [1].

### 1. Définition de la contamination

Selon le guide des bonnes pratiques de fabrication (BPF), la contamination est définie comme « l'introduction non intentionnelle d'impuretés de nature chimique ou microbiologique, ou de matière étrangère, à l'intérieur ou à la surface d'une matière première, d'un intermédiaire, ou d'une substance active, pendant la production, l'échantillonnage, le conditionnement ou le reconditionnement, le stockage ou le transport » [2].

La contamination entraîne donc un défaut dans la qualité du produit fini, ainsi, le médicament ne répond plus aux exigences essentielles du dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM), à savoir : la qualité, la sécurité et l'efficacité.

### 2. Différents types de contamination

Il existe plusieurs types de contamination :

#### 2.1. Contamination particulaire

La contamination particulaire représente toutes les substances qui n'entrent pas dans la composition des produits fabriqués (toute substance différente des principes actifs ou des excipients) [3].

Ces contaminations ont plusieurs origines : tellurique, usure des équipements et des machines, le personnel, les vêtements et l'environnement de façon générale.

Les particules sont caractérisées par leur diamètre exprimé en micromètre ( $\mu\text{m}$ ). La contamination particulaire est caractérisée par le nombre de particules par unité de volume. Cette mesure est réalisée à l'aide d'un compteur de particules, il en résulte une classification des zones et des dispositifs d'atmosphères contrôlées (ZAC) telle qu'est décrite par les bonnes pratiques de fabrication (BPF) et qui, fait référence, pour cette classification à la norme ISO 14644-1 qui spécifie la classification de la propreté de l'air des salles et des zones propres.

**Tableau I : Classification particulaire des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée selon les BPF [2].**

Classe	Au repos		En activité	
	<i>Nombre maximal autorisé de particules par m<sup>3</sup> de taille égale ou supérieure aux tailles précisées.</i>			
	0.5 $\mu\text{m}$	5 $\mu\text{m}$	0.5 $\mu\text{m}$	5 $\mu\text{m}$
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352000	2900
C	352000	2900	3520000	29000
D	3520000	29000	Non défini	Non défini

**Classe A :** Les points où sont réalisées des opérations à haut risque, tels que le point de remplissage, les ampoules et flacons ouverts et les points de raccordements aseptiques. Les postes de travail sous flux d'air laminaire doivent normalement garantir les conditions requises pour ce type d'opérations.

Un flux d'air unidirectionnel et des vitesses inférieures peuvent être utilisés dans les isolateurs clos et dans les systèmes clos type « boîte à gants ».

**Classe B :** Pour les opérations de préparation et de remplissage aseptiques, cette classe constitue l'environnement immédiat d'une zone de travail de classe A.

**Classes C et D :** Zones à atmosphère contrôlée destinées aux étapes moins critiques de la fabrication des médicaments stériles [2].

## 2.2. Contamination microbiologique ou biocontamination

La contamination microbiologique a pour origine les organismes vivants tels que les levures, les moisissures, les bactéries et les virus qui dans des conditions qui leur sont favorables (température, humidité, pH, apport nutritif ...) se développent et se multiplient pour coloniser les surfaces des équipements. Ces microorganismes peuvent être détectés et quantifiés par des techniques de microbiologie [1].

La contamination microbiologique est mesurée en nombre d'unités formant colonies (**ufc**). Cette mesure permet une classification des zones et des dispositifs d'atmosphères contrôlées (ZAC) selon les BPF.

Le tableau II présente les limites recommandées de la contamination microbiologique pour chaque type de classe de zone à atmosphère contrôlée.

**Tableau II : Recommandations pour la surveillance microbiologique des zones à atmosphère contrôlée durant la production selon les BPF [2].**

<b>Limites recommandées de contamination microbiologique (a)</b>				
<b>Classe</b>	<b>Echantillon d'air (ufc/m<sup>3</sup>)</b>	<b>Boite de pétrie (diamètre 90 cm) ufc/4heures (b)</b>	<b>Boite de pétrie (diamètre 55 cm) ufc/plaque</b>	<b>Empreinte de gant (5doits) ufc/gant</b>
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	1
C	100	50	25	Non défini
D	200	100	50	Non défini

Notes :

(a) Il s'agit de valeurs moyennes.

(b) Certaines boîtes de Pétri peuvent être exposées pendant moins de quatre heures.

## 2.3. Contamination chimique

La contamination chimique se fait par les principes actifs, les excipients, les produits de dégradation et les agents de nettoyage. Ce sont des contaminants qui font l'objet de suivis

(identification et quantification) car il est possible de calculer des limites d'acceptation pour chaque type de contaminant chimique. La majorité des contaminations chimiques ont pour origine une contamination croisée [1, 4].

#### 2.4. Contamination croisée

La contamination croisée, encore appelée « **cross contamination** » correspond au transfert des contaminants par un produit (substance active, excipient, article de conditionnement, produit semi-fini, etc.) vers un autre produit au moyen d'un ou plusieurs vecteurs. Ce type de contamination est la plus redoutée en industrie pharmaceutique [1, 4].

Selon les bonnes pratiques de fabrication, la contamination croisée est définie comme la « contamination d'un produit par un autre » ou encore la « contamination d'une matière ou d'un produit par une autre matière ou par un autre produit » [2].

Deux types de contamination croisée peuvent être distingués :

- **La contamination successive** : Cette contamination est rencontrée lorsque les équipements ne sont pas dédiés, plusieurs produits sont fabriqués sur les mêmes équipements et dans les mêmes locaux. Un résidu du produit précédent reste dans l'équipement et constituera une source de contamination pour la fabrication d'un produit suivant [5].
- **La contamination simultanée** : Lorsque plusieurs produits sont fabriqués sur des équipements différents en même temps et dans des zones proches. Le personnel et le matériel peuvent être à l'origine d'une telle contamination en transportant le produit d'une zone vers une autre. Ceci impose la mise en place d'un système de gestion des flux des personnes et des matières [5].

La notion de contamination croisée telle que définie précédemment, concerne essentiellement l'étape de fabrication, cette définition peut être élargie pour englober d'autres étapes comme le conditionnement primaire et secondaire, certains incidents attribués à ce mode de contamination surviennent parfois, on cite par exemple la présence d'une notice jointe à un produit ne lui correspondant pas, ou encore un étui renfermant un blister inadéquat.

La contamination croisée concerne aussi la partie documentation d'un produit pharmaceutique. Le dossier de lot est le document maître de la production d'un lot de médicament. Il retrace l'historique des étapes de fabrication et de conditionnement ainsi que celles de contrôle. La substitution ou le mélange d'une feuille de dossier de lot du médicament **A** avec une autre feuille de dossier de lot du médicament **B** est considéré comme une contamination croisée. [5].

### 3. Triangle de contamination : Relation Sources – Vecteurs – Récepteurs de la contamination

La contamination croisée résulte de la relation directe ou indirecte entre trois éléments qui forment un triangle de contamination [5]. Ces éléments sont : les sources, les vecteurs et les récepteurs de la contamination, ils sont schématisés dans la figure 01.

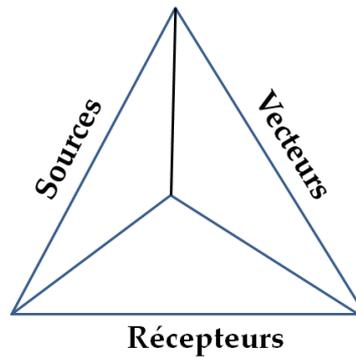


Figure 01 : Triangle de contamination [5].

#### 3.1. Sources et vecteurs de la contamination : Approche des 5 M

L'approche des 5 M ou encore appelée digramme de poisson ou d'Ishikawa peut être adaptée au processus de contamination afin d'identifier ses sources et de connaître en conséquence ses vecteurs [4]. Les différents éléments constituant ces sources et ces vecteurs sont présentés dans la figure 02.

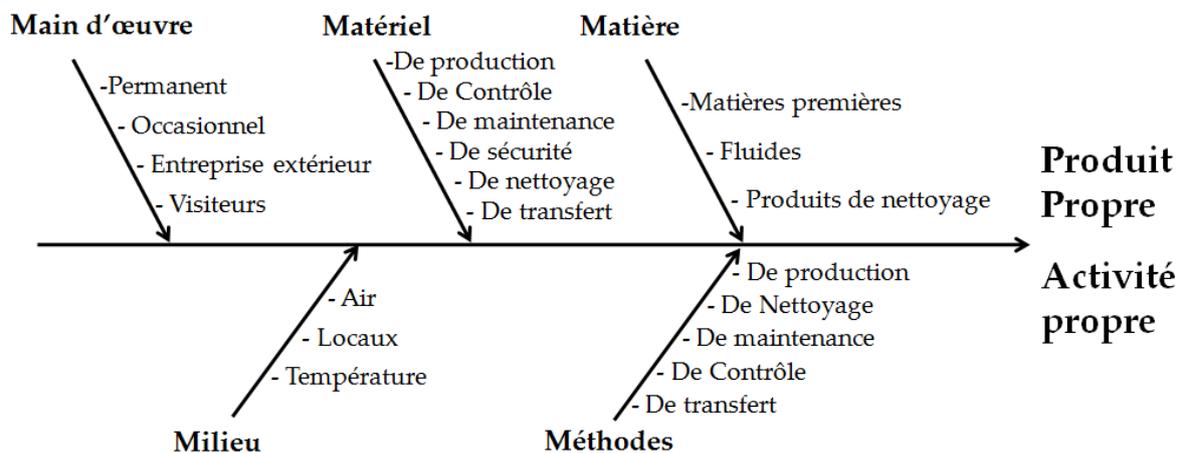


Figure 02 : Diagramme des 5 M représentant les sources de la contamination [4].

##### 3.1.1. Milieu

L'environnement de travail peut être le vecteur de nombreux contaminants. L'air ambiant peut véhiculer des poussières, des gaz et des microorganismes en provenance des matières premières, des produits en cours de fabrication, du personnel ou du matériel utilisé dans la zone de travail mais aussi du sol, des plafonds et des surfaces des équipements [4, 6].

### **3.1.2. Matière**

Les matières premières utilisées pour la fabrication des médicaments peuvent être elles-mêmes une source de contamination particulière ou microbiologique. L'eau utilisée au cours du procédé de fabrication ou du nettoyage peut apporter des contaminants dans l'équipement et dans le lot de fabrication. Les emballages des matières premières, des mauvaises conditions de stockage, des manipulations sans protection sont autant de sources de contamination des matières. Les produits utilisés pour le nettoyage ne doivent pas non plus être source de contamination [4].

### **3.1.3. Main d'œuvre**

Le personnel est une source très importante de contamination. Une personne émet environ 100 000 particules par minute au repos, et jusqu'à 30 millions en activité. Ces particules peuvent être inertes (cheveux, particules telluriques des vêtements) mais aussi des microorganismes notamment ceux de la flore cutanée et buccale (levures et bactéries) [4].

### **3.1.4. Matériel**

L'usure des équipements dans le temps ou les dommages occasionnés pendant leur fonctionnement peut apporter des contaminants au fur et à mesure de l'utilisation. Les opérations de maintenance des équipements peuvent favoriser la contamination, notamment pour les soudures qui génèrent des endroits à surface rugueuse facilitant ainsi l'adhésion des salissures.

Le matériel utilisé pour le nettoyage des équipements et des locaux peut de même constituer une source de contamination, leur choix est donc très important pour garantir l'efficacité du nettoyage [4].

### **3.1.5. Méthode**

La gestion des flux dans les zones de production est très importante pour limiter la contamination des produits et des locaux. Le flux des personnes, des matières et du matériel doit être rigoureusement défini. La pression dans chaque local est réglée de façon à orienter le mouvement d'air dans les zones de communication (SAS, vestiaires...). Cela permettra de réduire le risque de contamination.

Enfin, et en conformité avec les nouvelles exigences de qualité, une approche globale d'analyse des risques de contamination doit être mise en place dans le cadre de politique qualité de l'entreprise en définissant et en évaluant tous les facteurs intervenant dans le processus général de la contamination [4].

### 3.2. Récepteurs de la contamination

Les récepteurs, selon les BPF, sont «essentiellement constitués par les composants et les différentes présentations pharmaceutiques en cours de préparation, en vue d'en faire un médicament administrable » [6]. Il s'agit donc ;

- Des matières premières.
- Des articles de conditionnement primaire.
- Des produits intermédiaires semi-finis.
- Des produits fini ou produit vrac.

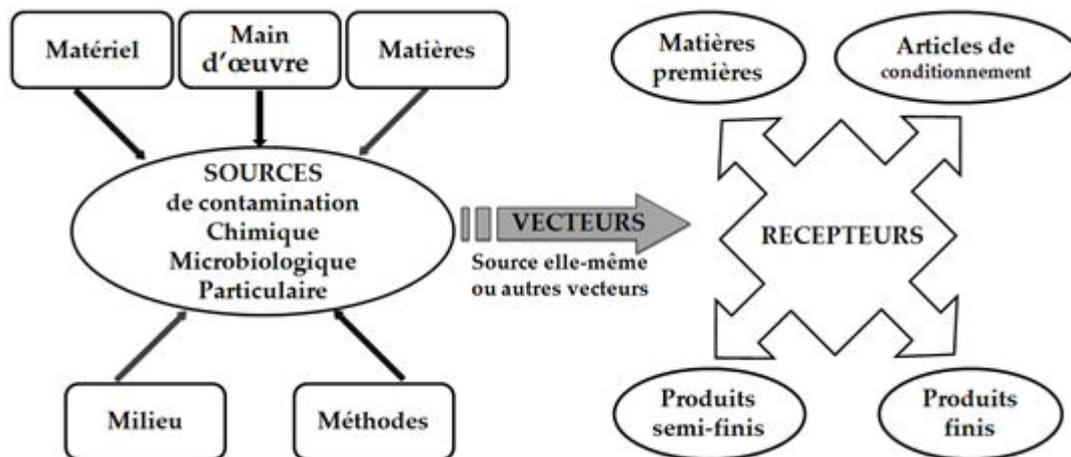


Figure 03 : Processus de la contamination [6].

### 4. Facteurs aggravant la contamination

Quelques facteurs comme l'électricité statique et le vide interviennent dans certains processus de contamination, dans ces cas ils sont traités de la même manière que les contaminants eux-mêmes [7].

### 5. Enjeux de santé et économique de la contamination en industrie pharmaceutique

#### 5.1. Conséquences sur la santé publique

Les conséquences d'une contamination prennent effet lorsque le médicament est libéré dans son circuit de distribution (hôpitaux, pharmacies d'officine, patients). La gravité des conséquences dépend alors du moment auquel cette contamination est détectée [1].

##### 5.1.1. Conséquences sur la santé

Pour le patient, un médicament doit répondre aux exigences décrites dans le dossier d'AMM à savoir ; la qualité, la sécurité et l'efficacité. La contamination d'un produit pharmaceutique entraîne une modification de niveau de qualité, il peut avoir aussi un impact sur la sécurité du patient. Ce défaut peut se traduire selon le degré de contamination par ;

- L'apparition d'un effet pharmacologique ou toxique indésirable.
- Une hypersensibilité (allergie)

- Une modification de l'effet pharmacologique prévu (diminution ou augmentation de l'effet).
- Une modification de la stabilité du médicament.

Aucun de ces effets n'est acceptable car les conséquences peuvent aller jusqu'à la mort du patient (exemple d'un choc anaphylactique, réaction allergique grave) [5].

### 5.1.2. Critères de gravité

Les conséquences sur la santé des patients peuvent être désastreuses selon la nature des produits, la voie d'administration et la durée du traitement. L'industrie pharmaceutique doit prendre en compte ces facteurs dans son analyse **de risque** de la contamination.

**Les médicaments à risque majeur en cas de contamination croisée sont les médicaments injectables et les médicaments administrés à fortes doses ou pendant une longue période** [5].

## 5.2. Conséquences sur l'entreprise

La contamination croisée est la plus redoutée par les industriels. Les retombées d'une telle contamination sont essentiellement de type sanitaire. Sans oublier le discrédit qui est jeté sur la qualité des produits de l'entreprise concernée aux yeux des autorités de santé publique et des patients. A ces retombées, s'ajoutent des impacts négatifs et des préjudices sur l'entreprise [5].

### 5.2.1. Défaut de qualité du médicament

Un médicament objet d'une contamination croisée représente une **non-conformité** aux spécifications décrites dans le dossier d'autorisation de mise sur le marché. L'opérateur pharmaceutique peut recevoir une réclamation de la part des utilisateurs [5].

### 5.2.2. Rappels de lots

Les contaminations, en général, occupent une grande place dans les rappels de lots. Lorsqu'un médicament est mis sur le marché et qu'il a été l'objet d'une contamination, l'entreprise pharmaceutique concernée, en accord avec l'autorité chargée du médicament, retire immédiatement le lot du marché afin de ne pas propager le risque à grande échelle [5].

### 5.2.3. Pertes économiques

Plus une contamination est détectée à la fin d'un processus de fabrication, plus elle coûte cher. A l'inverse, une détection précoce limite le coût de la non-qualité. C'est ainsi qu'à chaque étape de fabrication d'un médicament, des contrôles sont mis en place afin de détecter toute anomalie. Une non-conformité d'un médicament pour cause de contamination entraîne obligatoirement sa non commercialisation, ce qui représente une perte de gain pour l'entreprise sans oublier les charges occasionnées par la destruction (incinération) de ce médicament [5].

## 6. Maîtrise préventive de la contamination

### 6.1. Approche de management et d'organisation

Le model d'iceberg (figure 04) explique l'enchainement des causes et des effets entrainant la contamination [6].

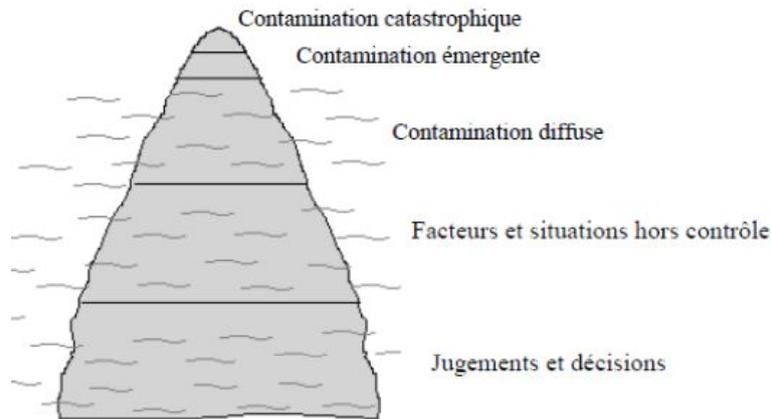


Figure 04 : Le model iceberg illustrant le processus de la contamination [6].

- **La contamination émergente** « Correspond à la partie visible de l'iceberg, les effets ou le niveau sont facilement détectés par les acteurs (fournisseur/client, malade, service de contrôle, autorités de santé publique...) » [6].
- **La contamination catastrophique** « Se situe au sommet de cette partie visible, elle représente les effets majeurs (perte importante de rendement d'un produit fabriqué mettant en péril les revenus d'une entreprise, maladie étendue ou décès,...) » [6].
- **La contamination diffuse** « Constitue le niveau accepté pour lequel les actions correctives ne sont pas envisagées, du moins à court terme » [6].
- **Les facteurs et situations hors contrôle** : Ce sont les éléments matériels qui peuvent contribuer à entraîner une contamination. Ils peuvent être actifs ou latents. Ces facteurs résultent de deux grands groupes de jugements et de décisions ;
  - **Les jugements et décisions de réflexion** : Ils interviennent lors de la conception des locaux et des méthodes [6].
  - **Les jugements et décisions d'exécutions**, qui concernent le personnel d'exploitation. Parmi, on y retrouve, les opérateurs qui sont tenus de suivre les procédures établies [6].

**Les deux principes d'approches de la maîtrise de la contamination sont donc les suivants :**

- **Approche par prévention** : « En agissant sur les parties les plus importantes du «ventre» de l'iceberg, qui sont les situations hors contrôle et les jugements et décisions. L'objectif dans ce cas est de diminuer la probabilité d'évoluer vers des problèmes plus importants » [6].

- **Approche par correction** : Lors de l'apparition des conséquences de la contamination émergente, la correction intervient en général sur les causes immédiates, cela revient à supprimer le sommet de l'iceberg sans affecter la masse qui fera à nouveau émerger une partie aussi importante qu'avant, la probabilité d'observer une nouvelle contamination émergente reste au même niveau [6].

## 6.2. Approche des 5M

A partir du diagramme d'Ishikawa illustrant les sources et les vecteurs de la contamination (figure 02), il est possible de concevoir des moyens de prévention pouvant être mis en place pour lutter contre la contamination croisée.

### 6.2.1. Main d'œuvre (Personnel)

Une grande partie de la contamination en industrie pharmaceutique est due au personnel, par leur formation, leur tenue et leur comportement, les opérateurs participent à la diminution des risques de contaminations. C'est pourquoi une formation des opérateurs est indispensable [6].

Les BPF ont consacré plusieurs paragraphes dans la partie formation en vue de minimiser la contamination liée au personnel, sans être limitatif, on cite ci-dessous les paragraphes suivants ;

«2.10 Le fabricant doit assurer la formation de tout le personnel appelé à pénétrer dans les zones de production et de stockage, ou dans les laboratoires de contrôle (personnel technique, d'entretien et de nettoyage inclus), de même que de toute autre personne dont les activités pourraient présenter une influence sur la qualité des produits » [2].

« 2.11 A côté de cette formation de base sur la théorie et la pratique du système de gestion de la qualité et des bonnes pratiques de fabrication, les membres du personnel nouvellement recrutés doivent recevoir une formation appropriée aux tâches qui leurs sont attribuées. Leur formation continue doit être assurée et son efficacité pratique périodiquement évaluée » [2].

« 2.12 Il convient d'assurer une formation spéciale aux personnes travaillant dans les zones où les contaminations peuvent constituer un risque particulier, par exemple les zones à atmosphère contrôlée ou les zones où sont manipulés des produits hautement actifs, toxiques, infectieux ou sensibilisants » [2].

Il convient de donner par cette formation, des notions d'hygiène individuelle (lavage des mains, visite médicale, port de tenues adaptées au poste de travail, pas de bijoux) et collective (maintien en bon état de propreté des endroits de rassemblements et de passage).

## 6.2.2. Milieu

### 6.2.2.1. Les Locaux

Les BPF préconisent l'utilisation de locaux conçus pour éviter les contaminations croisées et permettre un nettoyage et un entretien efficaces. Seront privilégiés des surfaces de sols, cloisons et plafonds lisses, non poreuses et présentant le moins de rugosités possibles.

**Les principales exigences des BPF en termes de conception des locaux sont :**

- **Limiter l'entrée des contaminants**

Il s'agit d'établir des **barrières anticontamination** autour des zones de production. La contamination particulaire étant essentiellement véhiculée par l'air ambiant, il faut veiller à une **circulation et un traitement de l'air** suffisant. Les **cascades de pressions** permettent d'éviter l'entrée des contaminants.

Il faudra en outre mettre en place, un **sas personnel** permettant à l'opérateur de revêtir une tenue spécifique de façon à limiter la contamination microbienne et particulaire. D'une manière générale, l'organisation et l'implantation des locaux doit permettre le respect et la gestion des flux des matières et du personnel. [8, 9]

- **La séparation des différentes zones de productions**

La séparation peut être faite dans le **temps**, c'est-à-dire selon le principe du travail par **campagnes pour les lignes multiproduits**, ou dans **l'espace**. Les BPF exigent de dédier les équipements pour la production de certains types de médicaments (pénicillines, vaccins vivants, autres produits biologiques) [2, 6].

- **Empêcher la sortie des contaminants**

Ceci est assuré par la mise en place de **SAS** pour le personnel ainsi que pour les produits finis et les déchets. Il ne doit pas y avoir d'ouverture directe de la zone à atmosphère contrôlée vers des zones à atmosphère non contrôlée (air extérieur) [6].

### 6.2.2.2. Le traitement de l'eau

L'eau entrant en contact avec les produits et les équipements doit répondre aux exigences de qualité décrite dans les pharmacopées en vigueur. Les BPF précisent que l'eau doit être stockée le moins longtemps possible, et distribuée de préférence par une circulation constante (boucle) maintenue à plus de 70°C, pour éviter la prolifération des micro-organismes [2, 6].

### 6.2.2.3. La température

Elle doit être contrôlée et restée confortable afin de ne pas incommoder les opérateurs dans la réalisation de leurs tâches. La température des zones de production ne doit pas favoriser aussi la prolifération des micro-organismes.

### 6.2.3. Matériel

Le **matériel de production** est conçu en fonction de son utilisation mais aussi de façon à faciliter son nettoyage. Les matériaux à partir desquels sont fabriqués les équipements doivent répondre dans les meilleurs des cas aux critères suivants ;

- **Etre chimiquement inerte** : Afin d'éviter toute réaction avec les produits et les agents de nettoyage.
- **Avoir une surface lisse** : Permettant une meilleure action des agents désinfectants et ne pas favoriser la rétention des résidus des produits et des microorganismes.
- **Avoir une bonne résistance mécanique** : Certains procédés de fabrication et/ou de nettoyage préconisent des températures et des pressions élevées. Ces conditions doivent être supportées par les matériaux.

Parmi les matériaux le plus utilisé dans la construction des équipements de production pharmaceutique, des outils de nettoyage et de prélèvements, l'inox dit pharmaceutique qui répond aux critères suscités.

Concernant le **matériel de maintenance**, les BPF stipulent qu'il « ne doit présenter aucun risque pour les produits ».

Enfin, le **matériel de nettoyage** ne doit pas être une source supplémentaire de contamination. Il devra être qualifié au même titre que le matériel de production [2, 6].

### 6.2.4. Matières

Les matières premières, les produits semi-finis, produits finis ou les articles de conditionnement, doivent être identifiées de manière à éviter toute erreur d'utilisation et stockés dans leurs conditions de stabilité dans des récipients hermétiques de façon à éviter leur dégradation et leur contamination [2, 6].

### 6.2.5. Méthodes

Les méthodes de travail, soient elles s'agissent de celles de production, de prélèvement, de nettoyage, de contrôle ou encore celles de maintenance, elles doivent être validées et rédigées sous forme de procédures suffisamment détaillées. L'objectif est d'éviter toute confusion ou erreur de manipulation. L'impact de chaque étape d'une opération sur la contamination du produit, de l'équipement ou même de l'opérateur doit être étudié et les précautions nécessaires doivent être préconisées [2, 6].

## 7. Maitrise curative de la contamination : Le nettoyage

En industrie pharmaceutique, le nettoyage des équipements de production fait partie intégrante des procédés de fabrication. C'est une opération pharmaceutique et en tant que telle **nécessite une validation**.

### 7.1. Définitions

La définition du nettoyage est donnée par plusieurs référentiels.

- Selon la définition de l'AFNOR (Norme 50-109), « Le nettoyage est une opération qui consiste à éliminer d'une surface donnée toute souillure visible ou invisible pouvant s'y trouver. » [10].
- Selon un rapport d'une commission technique de la SFSTP, le nettoyage est « L'action de séparer est d'éliminer des souillures généralement visibles d'une surface. L'objectif à atteindre est du domaine de propreté (visuelle) » [11].

### 7.2. Objectifs

L'objectif principal du nettoyage est d'éliminer toute trace de souillures ou de contaminants afin de maîtriser du mieux possible le risque de contamination croisée.

Outre cet objectif principal, le nettoyage des équipements permet de ;

- Garantir la qualité et la sécurité des médicaments.
- Répondre aux exigences réglementaires en matière de validation de nettoyage.
- Garder un rendement de production optimal en évitant les rappels de lots dus à la contamination croisée [7].

### 7.3. Méthodes de nettoyage

Pour s'assurer de l'élimination totale des souillures dues aux différents agents de contamination après fabrication, il est obligatoire de disposer des méthodes efficaces pour le nettoyage des équipements. Ces méthodes sont décrites dans des procédures de nettoyage et adaptées pour chaque produit si nécessaire ou applicables à un groupe de produits.

En industrie pharmaceutique, trois types de nettoyage sont rencontrés. Ces méthodes de nettoyage ont chacune leurs avantages et inconvénients. Il existe une forte tendance à réduire l'intervention du facteur humain (personnel) lors des nettoyages et ce, afin de minimiser le contact avec les produits et de pallier au manque de reproductibilité des nettoyages manuels.

#### 7.3.1. Nettoyage manuel

Ce type de nettoyage est complètement réalisé par un opérateur à l'aide des agents de nettoyage et des outils variés tels que ;

- Le nettoyeur à haute pression.
- Les têtes de nettoyage rotatives.
- Les brosses mécaniques ou manuelles.
- Les appareils à ultrasons.

Le principal avantage de ce type de nettoyage est le **ciblage des zones critiques** du matériel difficilement atteignables avec d'autres types de nettoyage. L'inconvénient majeur de ce nettoyage est sa **non reproductibilité** [3, 6].

### 7.3.2. Nettoyage automatique

Ce type de nettoyage ne requiert aucune intervention d'un opérateur. Il est entièrement automatisé. Très souvent, ce type de nettoyage est assimilé au nettoyage en place (NEP) ou CIP (Clean In Place) car il ne nécessite pas le démontage préalable des équipements.

Le nettoyage automatique est réalisé soit par aspersion, soit par circulation des fluides ou solvants. Les fluides proviennent d'une station de nettoyage en place, pilotée par un automate programmable. Ceci permet **d'assurer la reproductibilité du nettoyage**.

Bien que l'intervention de l'opérateur soit réduite, il est primordial de superviser le bon déroulement du nettoyage notamment en contrôlant les enregistrements séquentiels. Le développement et la conception d'un système de NEP sont particulièrement adaptés aux formes liquides ou semi-liquides.

Ce type de nettoyage, nécessite cependant, des installations lourdes et coûteuses et n'est pas forcément adapté pour les industries ou ateliers multi-produits [3].

Le nettoyage en place est réalisé à l'aide d'une tête rotative fixée sur l'équipement (Figure 05). C'est un avantage notable par rapport à d'autres méthodes car il n'exige pas le démontage du matériel. Il est réalisé selon le mécanisme suivant :

- Toutes les surfaces intérieures de l'équipement, y compris tous les accessoires, sont humidifiées.
- La vitesse d'écoulement doit toujours être suffisante pour mener à déloger les particules de la surface.
- Une fois la température est réglée, par un échangeur de chaleur installé dans le système, la solution de détergent est distribuée à travers les surfaces des équipements en continu pendant le temps requis motionné dans la procédure de nettoyage.
- Un rinçage est réalisé par l'eau adoucie chaude pour éliminer le reste de détergent après vidange. Cette opération est répétée plusieurs fois.
- Finalement, l'eau purifiée passe par le système [12].



Figure 05 : Tête rotative utilisée pour le NEP [12].

### 7.3.3. Nettoyage semi-automatique

Ce type de nettoyage est défini comme étant l'enchaînement des opérations manuelles et automatique.

L'intervention du personnel est très réduite mais indispensable au bon déroulement de la procédure de nettoyage. L'opérateur peut être amené à exécuter certaines tâches telles que l'activation du système ou les différentes étapes d'un nettoyage en place (NEP ou CIP), ou bien encore la préparation des solutions de détergent [3].

Le tableau III compare entre les différents types de nettoyage énumérés ci-dessus.

**Tableau III : Comparaison des différents types de nettoyage [3]**

Paramètres	Nettoyage Manuel	Nettoyage Automatique
<b>Temps</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temps faible quelque soit la surface à nettoyer.</li> <li>- Temps de latence entre les différentes étapes peut varier considérablement.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temps relativement élevé.</li> <li>- Temps de latence entre les différentes étapes mieux contrôlé.</li> </ul>
<b>Force ou Action mécanique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Force relativement élevée.</li> <li>- Très difficile à quantifier.</li> <li>- Non uniforme.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Force relativement faible.</li> <li>- Difficile à quantifier.</li> <li>- Plus uniforme.</li> </ul>
<b>Concentration</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Faibles concentrations dues aux risques du personnel.</li> <li>- Détergent faiblement toxique.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Concentration et composition chimique beaucoup plus agressives.</li> <li>- Formules acides ou alcalines faiblement moussantes.</li> </ul>
<b>Température</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Typiquement faible.</li> <li>- Variations avec les conditions ambiantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Température plus élevée.</li> <li>- Meilleurs contrôles et régulations.</li> </ul>

### 7.4. Mécanisme du nettoyage

Le nettoyage est un processus durant lequel les salissures ou souillures sont séparées d'une surface solide à l'aide d'une solution de nettoyage ou d'un détergent, ce qui permet leurs mises en dispersion, en suspension ou en solution. On parle plus précisément de détergence.

Cette détergence englobe tous les phénomènes physiques et chimiques qui visent à éliminer les souillures par leur mise en suspension ou en dispersion dans la solution de nettoyage [4, 14].

Cette action de détergence, combinée aux facteurs physiques de température, de temps de contact et d'action mécanique permet d'obtenir un nettoyage efficace.

Au cours d'un nettoyage, trois interactions (équilibres) sont rencontrées, elles sont présentées dans la figure 06.

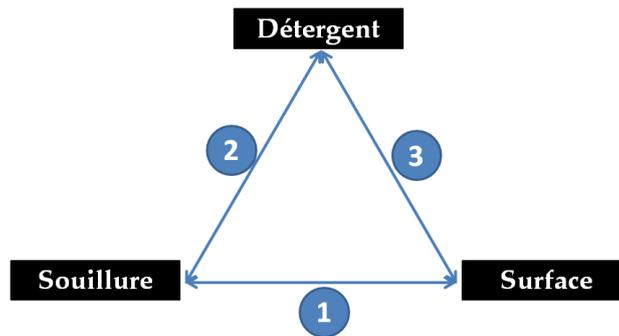


Figure 06 : Interactions au cours du nettoyage [5].

- Equilibre 1 : Interaction surface – souillure.
- Equilibre 2 : Interaction surface – Détergent.
- Equilibre 3 : Interaction détergent – surface.

Dans tout type de nettoyage, il existe trois phases :

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

Les trois phénomènes essentiels du nettoyage sont le mouillage, le déplacement de la souillure et son anti-redéposition.

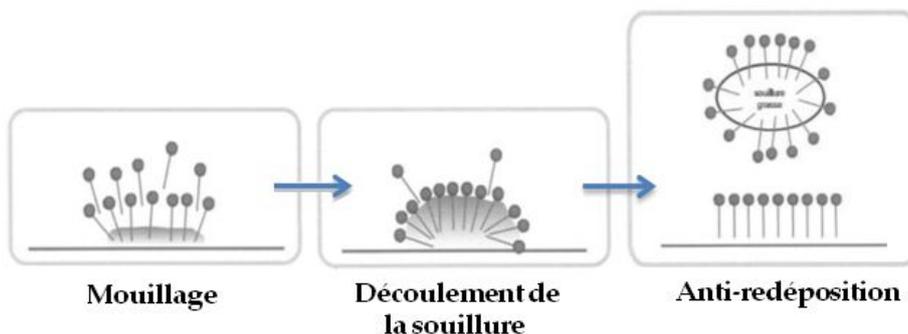


Figure 07 : Schématisation de l'action du détergent sur une souillure [4].

#### 7.4.1. Le Mouillage

Le mouillage est la première étape de l'action d'un détergent. Cette propriété de solubilisation ou de dispersion des salissures provient de l'action des tensio-actifs présents dans la formule des détergents.

Entre la souillure et la surface, il existe des interactions de type forces électrostatiques de faible intensité, liaisons hydrogènes, interactions de Van der Waals et interactions hydrophobes, ces forces assurent l'adhésion de la souillure à la surface de l'équipement.

Les tensio-actifs migrent aux niveaux des interfaces eau/souillure en contact de la salissure. Ainsi, les tensions inter faciales souillure – surface sont réduites ce qui entraîne le décollement de la souillure [4].

### 7.4.2. Déplacement de la salissure : Mécanisme d'émulsifiations, de dispersion, de solubilisation

Le tensioactif possède une forte affinité pour les souillures organiques grâce à ses propriétés physicochimiques. La souillure est fractionnée puis émulsionnée et/ou solubilisée. Cela permet la formation de micelles qui emprisonnent les souillures dans la solution de lavage (figure 08).

Plus la concentration en tensioactif augmente, plus le phénomène d'émulsion des souillures est important jusqu'à atteindre la concentration micellaire critique (CMC). Au dessus cette concentration, les micelles se forment spontanément et se solubilisent ou se dispersent dans la solution de lavage [4].

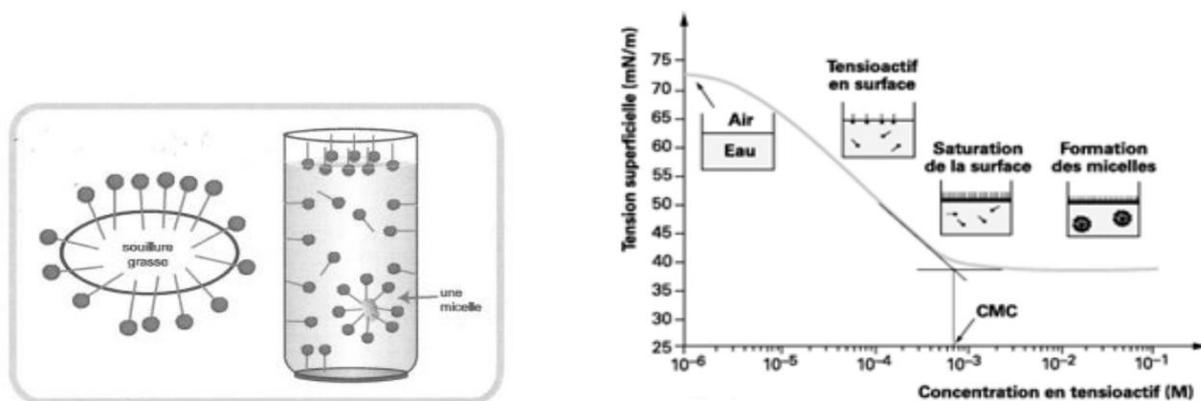


Figure 08 : Mécanisme de déplacement de la souillure [4].

### 7.4.3. Anti-redeposition

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

- Répulsion électrostatique par les agents ioniques en milieu aqueux.
- Répulsion stérique par les agents polymériques non ionique [4].

### 7.5. Facteurs influençant le nettoyage

Le nettoyage est le résultat de l'interaction de 4 facteurs qui permettent d'obtenir un équipement visuellement propre et répondant aux limites fixées pour les résidus de principe actif, agent de nettoyage et en termes de contamination microbienne. Les 4 facteurs clés du nettoyage sont [4, 14] :

**7.5.1. Le temps durant lequel le nettoyage est effectué :** Les réactions chimiques aboutissant au nettoyage ne sont jamais instantanées. Rappelons que la quantité de souillure résiduelle lors du nettoyage est fonction du temps.

L'opération de nettoyage suit la cinétique d'une réaction de premier ordre et obéit à une loi décroissante de type exponentielle [4] :

$$Q = Q_0 e^{-k.t}$$

Avec :

Q : la quantité de souillure par unité de surface.

$Q_0$  : la quantité de souillure initiale par unité de surface.

k : constante de nettoyage.

t : temps durant lequel le nettoyage est effectué.

**7.5.2. La température :** Comme toute réaction chimique, une augmentation de la température a pour conséquence une augmentation de la vitesse de réaction (loi d'Arrhenius). L'élévation de la température a également un rôle dans l'abaissement de la tension superficielle, la solubilisation des substances (loi de VAN T'HOFF) et la diminution de leur viscosité, l'augmentation de la turbulence (agitation thermique) qui atteint son maximum à ébullition. L'augmentation de la température permet aussi de ;

- Ramollir les huiles, graisses, cires et faciliter la pénétration du détergent.
- Faciliter l'action séquestrant de certains adjuvants notamment les phosphates.
- La température d'opération de nettoyage se situe de façon typique, selon les procédés utilisés entre 40 et 80 °C [4, 12].

**7.5.3. L'action mécanique :** Elle joue un rôle primordial dans l'efficacité du nettoyage. L'action mécanique est différente si le lavage est manuel ou automatique. En effet, le nettoyage manuel dépendra des actions de frottements réalisés par les opérateurs.

**7.5.4. L'action physicochimique :** Tout détergent possède une concentration optimale d'utilisation, déterminée lors d'essais par le fournisseur. L'efficacité du nettoyage n'est pas proportionnelle à la concentration du détergent pour toutes ses valeurs. En effet au dessus d'une certaine concentration, des difficultés de rinçage peuvent être observées, des traces de détergent peuvent subsister et une toxicité tant pour l'opérateur que pour l'environnement peut apparaître. En règle générale, les détergents sont utilisés à une concentration de 2 à 5% [4].

Ces quatre paramètres sont réunis dans le cercle de SINNER (figure 09). Ils sont interdépendants et sont la clé d'un nettoyage réussi. Il faut donc trouver le meilleur équilibre possible entre ces quatre facteurs en déterminant la valeur optimale de chacun d'eux. Ceci peut se faire soit par tâtonnement ou encore par la réalisation d'un plan d'expérience factoriel.

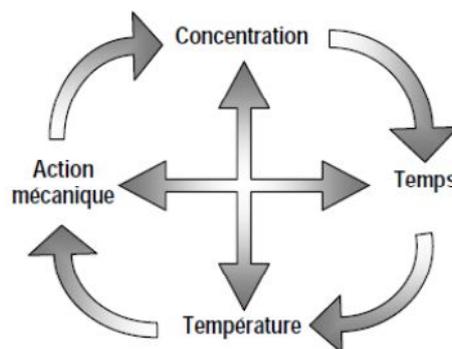


Figure 09 : Cercle de SINNER [4].

## 7.6. Les agents de nettoyage

### 7.6.1. Définitions

- Un détergent est un « produit dont la composition est spécialement étudiée pour le nettoyage selon un processus mettant en œuvre le phénomène de détergence » [15].
- La détergence est un « processus selon lequel les salissures (souillures) sont détachées de leur substrat et mises en solution ou en dispersion » [15].

**7.6.2. Différents types de détergents :** Le tableau IV résume les différents types de détergents utilisés dans le nettoyage des équipements de production pharmaceutique.

Tableau IV : Différents types de détergents [4]

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

### 7.6.3. Critères de choix d'un détergent

Un détergent est choisi de façon à éliminer les souillures sans altérer les surfaces des équipements et ne pas être ni une source, ni un vecteur de contamination. La méthode de nettoyage doit permettre d'obtenir une propreté visuelle et une conformité aux critères d'acceptation résiduelle pour les contaminants chimiques et microbiologiques [4].

Les critères de choix d'un détergent sont ;

**7.6.3.1. Nature de la souillure :** La figure 10 décrit le type de détergent à utiliser en fonction de la nature de la souillure.

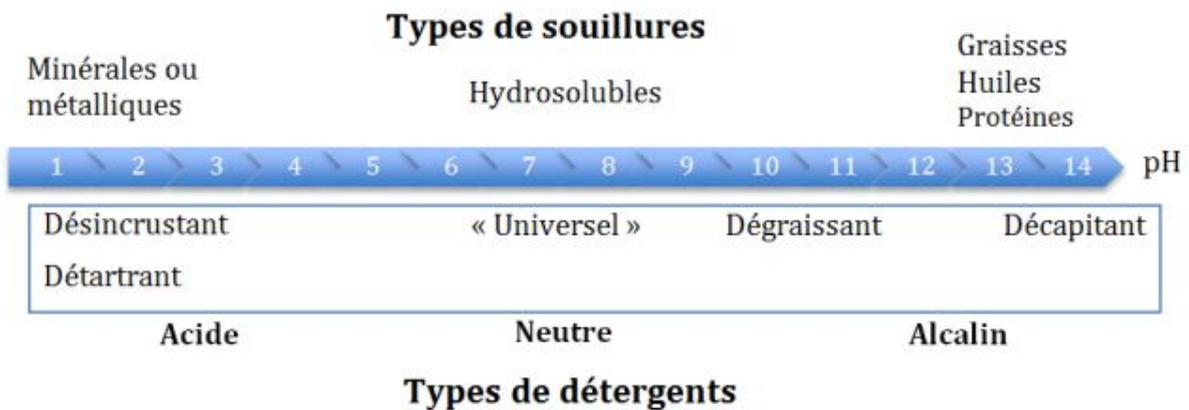


Figure 10 : Choix du détergent en fonction de type de la souillure [4, 16].

**7.6.3.2. Nature du support à nettoyer :** La compatibilité du détergent avec les surfaces à nettoyer doit être observée afin d'assurer la non agressivité du détergent vis-à-vis des surfaces à nettoyer.

**7.6.3.3. Caractéristiques de l'eau :** L'eau joue un double rôle dans le nettoyage, d'une part, il sert comme agent de dilution et d'autre part, pour le rinçage. Le détergent doit être soluble dans l'eau et facilement éliminé par rinçage.

**7.6.3.4. Conditions de nettoyage (manuel ou automatique) :** Pour le nettoyage automatique, il est préférable d'utiliser un détergent non moussant car il sera plus facile de l'éliminer pendant la phase de rinçage.

**7.6.3.5. Efficacité du détergent :** Si l'installation est multi-produits, on cherche le produit ayant la plus grande efficacité pour nettoyer la **souillure la plus difficile à éliminer**.

**7.6.3.6. Impact écologique :** Il est préférable que le détergent soit biodégradable et qu'il soit conforme à la législation relative aux rejets des déchets.

**7.6.3.7. Coûts du détergent :** La concentration du détergent dans la solution de lavage doit être optimale afin de rationaliser sa consommation.

#### 7.6.4. Les désinfectants

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

Les désinfectants **les plus utilisés** sont : **le chlore, les alcools, les phénols, les aldéhydes, les ammoniums quaternaires, les alkylamines et les biguanides.**

Les critères de choix d'un désinfectant sont les mêmes que pour un détergent. S'y ajoutent ceux spécifiques aux désinfectants à savoir l'activité bactéricide, fongicide, virucide, sporicide et la qualification du produit.

Les BPF recommandent de mettre en place une **alternance** entre plusieurs désinfectants de formulations différentes afin **d'éviter les phénomènes de résistance** dans les zones à atmosphère contrôlée. Tous les désinfectants retenus devront alors être qualifiés [11, 17].

#### 7.7. Les dix (10) principes du nettoyage

Il existe 10 principes à respecter pour garantir la bonne efficacité du procédé de nettoyage [18].

1. Le processus de nettoyage doit être compatible avec les activités de production et avec la classe d'air de la zone de production.
2. Le processus de nettoyage doit respecter les surfaces à nettoyer (limiter l'abrasivité du procédé de nettoyage, compatibilité des détergents avec les matériaux à nettoyer).
3. Le nettoyage ne doit pas étaler la souillure sur les surfaces des équipements.
4. Le nettoyage ne doit pas apporter des contaminations supplémentaires.
5. Le nettoyage ne doit pas transférer la contamination d'une zone vers une autre.
6. Le procédé de nettoyage doit commencer dans la zone la plus critique (qui est la plus sensible à la contamination) pour se terminer dans la zone la moins critique.
7. Le procédé de nettoyage doit se dérouler de la zone la plus sale vers la zone la moins sale (cependant, si ce principe est en contradiction avec le principe 6, le principe 6 est prioritaire).
8. Le nettoyage d'une zone doit être réalisé dans le sens des flux d'air.

9. Le personnel doit être formé et habilité à réaliser les opérations de nettoyage et les équipements doivent être qualifiés. L'opérateur chargé du nettoyage est tenu de respecter le mode opératoire.

10. Les règles de sécurité lors des opérations de nettoyage doivent être respectées afin de limiter les risques pour les opérateurs, les médicaments et l'environnement.

#### **7.8. Traçabilité du nettoyage**

L'opération de nettoyage étant considérée comme une des étapes du processus de fabrication d'un médicament, elle est aussi soumise aux mêmes règles de traçabilité.

Cette traçabilité est assurée par tout document rédigé et renseigné dans le cadre du nettoyage des équipements (protocoles, rapports, procédures, modes opératoires, fiches techniques, fiches de suivi, enregistrements ... etc.) [4].

# **CHAPITRE II**

## **LA VALIDATION DU NETTOYAGE**

En industrie pharmaceutique, le nettoyage des équipements fait partie intégrante d'un procédé de fabrication, un nettoyage efficace d'un équipement complète le procédé de fabrication d'un produit pharmaceutique.

Le nettoyage engendre des coûts supplémentaires à la production, l'arrêt de cette dernière en vue du nettoyage des équipements, l'usage des détergents, l'intervention des opérateurs et les contrôles qualités effectués par le laboratoire sont tous des facteurs qui s'additionnent et augmentent les charges de la fabrication. Il est bien évident que la répétition des opérations de nettoyage notamment dans les sites multiproduits multiplie et ce, de façon proportionnelle ces charges et augmente le coût de revient d'un médicament.

La nécessité de validation de ce nettoyage s'impose alors pour rationaliser l'impact de chaque facteur cité précédemment et pour minimiser le plus possible la répétition du nettoyage sans autant diminuer de son efficacité.

Cette dualité - minimiser la répétition du nettoyage et maintenir son efficacité - représente toute la problématique du nettoyage en industrie pharmaceutique. L'opérateur se trouve dans l'obligation de mettre au point des **procédures communes** pour le nettoyage d'un groupe de produits ou de la totalité des produits fabriqués sur les mêmes équipements.

### 1. Historique

Historiquement, la validation du nettoyage est née dans le domaine de l'industrie chimique dans un souci de sécurité et afin de minimiser les risques toxicologiques qui peuvent survenir lors du passage d'un produit dans un autre. Par la suite, elle s'est étendue à l'industrie pharmaceutique.

En industrie pharmaceutique, les guides des BPF publiés dans toutes les régions du monde (Etats Unis, Europe, Japon ou bien celui de l'ICH « GMP ») traitent le nettoyage et sa validation dans leurs aspects, documentation, technique et méthodologique et émettent continuellement des exigences et des recommandations.

Il est important de noter qu'aux prémices de la validation du nettoyage, le terme validation n'a pas été clairement cité. Des allusions ont été souvent faites à « l'état propre » des équipements, mais compte tenu de nombreux retraits de lots de médicaments pour des raisons de contamination, le concept de nettoyage a vite évolué et l'approche validation est devenue inévitable [3].

Parmi les retraits de lots de médicaments et sans doute, ceux enregistrés aux Etats Unis dans les années 70 demeurent les plus marqués dans l'histoire de la validation du nettoyage. L'exemple le plus probant est celui du rappel de lot de **Cholesteramine Resin USP** en 1988 (résine chélatrice des sels biliaires utilisée pour le traitement de l'hypercholestérolémie et de l'ictère choléstatique), contaminé par des produits de dégradation des **pesticides** alors que le site ne fabriquait pas le médicament au même moment. « L'administration BUSH aurait conclu à l'époque au terrorisme chimique » [3].

La contamination croisée dans cette affaire semble avoir été liée à l'utilisation des fûts qui avaient été utilisés pour stocker les **solvants récupérés** à partir d'un processus de **production de pesticides**, ces fûts ont ensuite été utilisés pour stocker des solvants récupérés rentrant dans le procédé de **fabrication de la résine** [3].

En 1992, la FDA a bloqué l'importation de lots de certains médicaments présentant un risque de contamination par des composés stéroïdiens car ces médicaments étaient fabriqués sur des équipements communs.

Non loin de nos jours, l'exemple de « l'affaire du **furosémide TEVA** » (laboratoire génériqueur) est un fait d'actualité. En fait, en 2013, une patiente cardiaque traitée par Furosémide TEVA se plaint à son pharmacien de somnolences. L'alerte est lancée : des comprimés de Furosémide pourraient être remplacés dans les blisters par des comprimés de Zoplicone (somnifère). Les sources de cette contamination croisée peuvent être multiples : erreur de conditionnement de la part du laboratoire, erreur de prise du patient, introduction volontaire par un tiers. **L'alerte fût clôturée, mettant en cause la négligence de la patiente** [5, 19].

### 2. Définitions

- Selon les BPF « La validation du nettoyage est une information documentée qu'une procédure de nettoyage approuvée élimine le produit ou les agents utilisés préalablement pour nettoyer l'équipement, de manière reproductible, en dessous du niveau de contamination résiduelle maximale autorisée déterminé scientifiquement » [2].
- Selon la commission de la SFSTP « Valider un procédés de nettoyage, c'est de démontrer scientifiquement, de manière documentée, que les différentes étapes d'un procédé de nettoyage, conduisent à obtenir une surface ne comportant pas de contamination résiduelle supérieure à une limite préalablement fixée et ceci d'une manière reproductible » [16].

### 3. Contextes réglementaires et normatifs

Les réglementations en industrie pharmaceutique sont de plus en plus rigoureuses et exigeantes, compte tenu de nombreux incidents survenus et ayant causé plusieurs atteintes à la santé des patients. En matière de validation du nettoyage, les autorités réglementaires de chaque pays exigent aux producteurs pharmaceutiques d'apporter des preuves documentées que les équipements de fabrication soient maintenus dans un niveau de propreté satisfaisant après usage, de sorte à éviter toute contamination microbienne ou chimique des médicaments.

Parmi ces guides, on cite ;

### 3.1. Guides nationaux des bonnes pratiques de fabrication « BPF »

#### 3.1.1. BPF françaises

L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé française (ANSM) a publié en décembre 2016 une nouvelle version du guide de bonnes pratiques de fabrication [2], ce guide évoque le nettoyage d'une façon générale dans le chapitre 3 relatif au locaux et précisément la validation du nettoyage dans les lignes directrices particulières – LD.15 qualification et validation, titre 10, validation du nettoyage.

#### LOCAUX ET MATÉRIEL

« PRINCIPE : Les locaux et le matériel doivent être situés, conçus, construits, adaptés et entretenus de façon à convenir au mieux aux opérations à effectuer. Leur plan, leur agencement, leur conception et leur utilisation doivent tendre à minimiser les risques d'erreurs et à permettre un **nettoyage** et un entretien efficaces en vue d'éviter les contaminations, dont les contaminations croisées, le dépôt de poussières ou de saletés et, de façon générale, toute atteinte à la qualité des produits » [2].

#### LD. 15 : VALIDATION ET QUALIFICATION

##### « Titre 10 : Validation du nettoyage

10.1. La validation du nettoyage doit être effectuée pour confirmer l'efficacité des procédures de nettoyage pour chaque équipement en contact avec le produit. Des agents factices peuvent être utilisés sous réserve d'une justification scientifique appropriée. Le regroupement d'équipements du même type appelle une justification de l'équipement choisi pour la validation du nettoyage » [2].

#### 3.1.2. BPF britanniques

Le guide britannique traite aussi le nettoyage et lui consacre plusieurs paragraphes dans des chapitres différents [3] :

- Chapitre 4, relatif aux équipements et aux locaux et exige la nécessité de maintenir les équipements dans un état propre.
- Chapitre 5, consacré à la production, évoque les équipements de fabrication et le matériel de prélèvement, qui doit être propre avant de démarrer la production.
- Chapitre 8, consacré au contrôle, la propreté des locaux et du matériel est exigée.

L'annexe 2 est consacrée aux mesures à prendre contre les contaminations croisées.

#### 3.1.3. BPF canadiennes

Les Lignes directrices des bonnes pratiques de fabrication canadiennes traitent d'une façon générale le nettoyage des équipements. Le Règlement C.02.005 sous chapitre Equipement de ce guide préconise que :

« L'équipement servant à manufacturer, emballer-étiqueter ou analyser un lot de fabrication d'une drogue doit être conçu, fabriqué, entretenu, utilisé et disposé de façon :

- a) à permettre le nettoyage efficace de toutes les surfaces qui s'y trouvent ;
- b) à empêcher la contamination de la drogue et l'introduction de toute matière étrangère à la drogue. » [20].

Les BPF canadiennes ne détaillent pas l'aspect technique de la validation du nettoyage, elles renvoient au guide 0028 relatif à la directive sur la validation des procédés de nettoyage.

Ce guide décrit les principes et les étapes de la validation du nettoyage notamment le choix du traceur, l'établissement des limites d'acceptation, les méthodes de prélèvement et de contrôle ainsi que les considérations microbiologiques [21].

### 3.2. Guides régionaux

#### 3.2.1. Guides Européens

Les BPF européennes considèrent le nettoyage comme faisant partie du processus de fabrication. La notion de nettoyage se retrouve assez fréquemment dans le guide. On peut citer :

- Les principes du chapitre 3 demandant que les locaux et le matériel soient conçus de façon à permettre un nettoyage efficace soit en rédigeant des procédures de nettoyage soit pour l'ensemble des mesures à prendre pour éviter la contamination croisée.
- L'annexe 18 qui reprend les principaux points des ICH et qui traite de la validation du nettoyage [1].

Le 20 novembre 2014, l'Agence Européenne des Médicaments (EMA pour European Medicines Agency) a publié une ligne directrice référencée EMA/CHMP/CVMP/SWP/169430/2012 et intitulée « Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities » qui définit une nouvelle approche pour la validation du nettoyage. Cette approche repose sur l'établissement des limites d'exposition, basée sur le **risque santé**, en définissant une dose journalière de contaminant à laquelle peut-être exposée un être humain pendant toute sa vie et cela sans entraîner des effets néfastes sur sa santé. Elle exploite toutes les données pharmacologiques et toxicologiques issues des différentes phases des études précliniques et cliniques de développement du médicament. Nous détaillerons ce concept dans la partie relative à l'approche PDE et validation du nettoyage.

Il est à noter que l'évolution des chapitres 3 et 5 des BPF dans sa récente version, qui recommande une approche scientifique basée sur une analyse du risque et une évaluation toxicologique de la contamination, est en parfaite harmonie avec la ligne directrice suscitée.

### 3.2.2. Guides américains

Les guides américains étaient les premiers documents à avoir traité le nettoyage en industrie pharmaceutique.

La FDA « Food and Drug Administration » a publié en 1993 un guide pour inspection de validation des procédés de nettoyage [22], ce guide fut l'un des premiers guides mis à disposition des industries pharmaceutiques en vue de documenter la validation du nettoyage. Actuellement, c'est le plus cité dans la littérature comme référence bibliographique.

Les points à considérer pour la validation du nettoyage décrits dans ce guide sont ;

- **La rédaction des procédures de nettoyages** : Ces procédures décrivent en détail les méthodes de nettoyage pour chaque équipement, la nature et la concentration du détergent ... etc.
- **La rédaction d'un protocole et d'un rapport de validation et leur approbation** : Un protocole de validation est rédigé préalablement à la validation du nettoyage, il décrit les outils et les normes relatives à la validation du nettoyage. Un rapport de validation documente les résultats de la validation du nettoyage avec leurs interprétations et les conclusions retenues.
- **L'établissement des limites d'acceptation** : Les limites doivent être en adéquation avec les quantités résiduelles de principes actifs après nettoyage. Selon la FDA ces limites doivent être logiques et pratiques.

Il est de même exigé aux industriels et ce, dans le cadre de validation du nettoyage de disposer des méthodes analytiques pour le dosage des **résidus de principes actifs**, les méthodes peuvent être spécifiques à un composé ou non spécifiques, mais elles doivent être suffisamment sensibles pour détecter et quantifier les traces de contaminants.

Un autre aspect de grande importance est celui relatif aux techniques d'échantillonnage. L'opérateur doit mettre œuvre des méthodes de prélèvement ayant un rendement suffisamment élevé pour pouvoir récupérer la majorité des résidus à partir des surfaces des équipements.

Les endroits où sont effectués les prélèvements doivent être déterminés et justifiés, l'opérateur doit mettre en place un plan de prélèvement.

### 3.3. Guides internationaux – Contexte d'harmonisation

Inscrite dans une démarche d'harmonisation mondiale des réglementations et des normes régissant l'industrie pharmaceutique, la Conférence Internationale d'Harmonisation « ICH en anglais qui signifie International Conference on Harmonisation » traite la validation du nettoyage dans la ligne directrice ICH Q7 relative au Bonnes Pratiques de Fabrication [23] dans le paragraphe 12.7 intitulé « Cleaning Validation – Validation du nettoyage » sous chapitre 12 dédié aux validations.

## CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE

Les points recommandés dans ce texte sont similaires à ceux traités dans le document élaboré par la FDA en 1993, avec prise en considération de l'aspect microbiologique dans la validation du nettoyage.

Vu son caractère « harmonisé », ce texte de l'ICH constitue un référentiel standard dans la validation du nettoyage.

**3.4. Autres guides :** Des organismes des sociétés savantes tels que la Société Française des Sciences Techniques et Pharmaceutiques, le Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S) ont publié plusieurs documents qui traitent la pratique de la validation du nettoyage d'une manière générale.

### Guides SFSTP :

- Validation des procédés de nettoyage [25] publié l'an 2000.
- Méthodes de prélèvement et méthodes analytiques pour le contrôle et/ou la validation du nettoyage. [25, 26] publiés respectivement en 2005 et 2006.

**PIC/S :** Validation master plan installation and operational qualification non-sterile process validation cleaning validation publié en septembre 2007 [27] et le guide 009-13 relatif aux BPF sous formes d'annexes [28].

### 3.5. Synthèse des évolutions réglementaires

Les différentes évolutions des textes réglementaires concernant la contamination croisée sont concordantes et varient dans le même sens. La maîtrise du risque de la contamination croisée repose sur trois étapes [29] :

- L'évaluation par analyse des risques pour chaque produit.
- La prise en compte de la nature du produit, de sa toxicité et la détermination des PDE utilisées dans l'établissement des critères d'acceptation des validations du nettoyage.
- La mise en place de mesures techniques et organisationnelles adaptées pour prévenir le risque.

**Tableau V : Récapitulatif des évolutions réglementaires aux niveaux Européen et Français [29].**

Evolution réglementaire	Entrée en application en Europe	Entrée en application en France
BPF - Chapitre 3	Mars 2015	Mars 2016
BPF - Chapitre 5	Mars 2015	Mars 2016
BPF - Annexe 15	Octobre 2015	En cours
EMA – “Guideline on setting health based exposure limits”	Juin 2015	En cours

### 4. Différents types de validation

Selon le guide des BPF [2], Il existe trois (03) types de validations du nettoyage :

#### 4.1. Validation prospective

Cette validation est celle préconisée en industrie pharmaceutique. Elle est réalisée sur un procédé de fabrication d'un médicament avant que celui-ci ne soit commercialisé [3]. En pratique cette validation est réalisée après fabrication des lots de validation.

#### 4.2. Validation concomitante (appelée aussi simultanée ou concurrentielle)

Cette validation est rencontrée soit [3] :

- Quand l'ensemble des données et des paramètres de production ne sont pas disponibles, car un nombre limité de lots est produit.
- Quand des lots de principes actifs ou médicaments sont produits rarement.

#### 4.3. Validation rétrospective

Ce type de validation est observé pour les médicaments déjà commercialisés, elle est réalisée sur la base d'un historique des données relatives à la fabrication, aux essais et aux contrôles.

### 5. Pré-requis à la validation du nettoyage

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

#### 5.1. Analyse des risques

Selon les récentes recommandations des bonnes pratiques de fabrications, une approche globale d'analyse des risques doit être envisagée au sein de l'entreprise pour une meilleure maîtrise de la contamination. La démarche fait appel aux méthodes d'analyse des risques et repose sur les règles des 5 M décrites dans le chapitre I définissant les sources et les vecteurs de la contamination.

L'analyse des risques concerne aussi les équipements et tout composant d'un système à valider, l'objectif étant d'évaluer les fonctions critiques de chaque équipement ou d'une étape d'un procédé et de les inclure dans la validation du nettoyage.

Une fois le risque est identifié, il sera évalué à l'aide des outils appropriés. En fonction des résultats obtenus, ce risque soit est accepté ou non. Si le risque est accepté, il est estimé sous contrôle. S'il n'est pas accepté, des actions (préventives et/ou correctives) obligatoires seront prises afin de réduire ce risque [6].

### 5.2. Rédaction des procédures de nettoyage

Le procédé de nettoyage faisant objet de validation est l'ensemble des étapes à suivre après fabrication d'un médicament, permettant d'éliminer les résidus de contaminants (chimique, microbiologique et particulaire) et évitant par conséquent la contamination du produit dit suivant. Ces étapes doivent être clairement décrites sous forme de procédures.

Les BPF indiquent que les procédures de nettoyage doivent comporter « les opérations à effectuer, les précautions à prendre, ou les mesures à prendre, dans un domaine directement ou indirectement en rapport avec la fabrication des médicaments » [2].

Ces procédures de nettoyage sont rédigées par l'utilisateur en l'occurrence la structure chargée de production et approuvées par l'assurance qualité. Les points principaux que doit décrire une procédure de nettoyage sont les suivants [6] ;

- Les locaux et le matériel faisant objet du nettoyage.
- Niveaux de propreté à atteindre : visuelle, chimique, microbiologique et particulaire.
- Agents de nettoyage utilisés : nature, préparation et mode d'emploi.
- Mode opératoire du nettoyage.
- Qualification du personnel chargé du nettoyage et la responsabilité de chacun.
- Les précautions particulières à prendre notamment celles liées à la sécurité des opérateurs, des équipements et des installations.
- Conduites à tenir devant les écarts et les anomalies du nettoyage.

Pour assurer la traçabilité des opérations de nettoyage, des fiches de suivi et des enregistrements sont renseignés à chaque étape et comportent l'ensemble des résultats, des observations ainsi que les actions correctives prises en cas d'anomalies.

### 5.3. Qualification du matériel et des agents de nettoyage

Le matériel et le consommable utilisés dans la validation du nettoyage doivent aussi faire objet d'une qualification. Cette qualification a pour objet de s'assurer que ce matériel ne sera pas lui-même une source de contamination ou un véhicule de celle-ci. Pour répondre à cet objectif, le matériel de nettoyage doit répondre aux critères suivants [6] ;

- Facilité à être nettoyé, désinfecté, stérilisé et séché.
- Résistance aux produits chimiques et aux agents de nettoyage.
- Résistance à l'abrasion des surfaces à nettoyer.
- Résistance aux conditions particulières de température.
- Absence de relargage de contaminants particuliers, chimiques, microbiologiques.
- Correspondance aux exigences réglementaires de sécurité et d'environnement.

En ce qui concerne les agents de nettoyage (détergents, désinfectants ...), ceux-ci doivent de même être qualifiés. Cette qualification repose sur la connaissance préalable de la détergence de ces agents et de leur action sur les micro-organismes (bactéricide, bactériostatique, fongicide et virucide). Ces informations sont renseignées dans la fiche technique du fournisseur [2].

### 5.4. Qualification des équipements

La qualification des équipements est un processus global qui démontre qu'un instrument est adapté pour son utilisation prévue et qu'il est maintenu dans un état de calibrage et de maintenance conformes à son utilisation.

Qualifier un équipement, c'est apporter des preuves documentées que celui-ci est installé et fonctionne de manière reproductible, conformément à des spécifications préétablies.

#### **Etapes de la qualification [2].**

La qualification d'un équipement doit prendre en compte l'ensemble des étapes, depuis la conception des spécifications et l'établissement du cahier des charges de l'utilisateur jusqu'à l'utilisation en routine de l'équipement.

#### **5.4.1. Etablissement du Cahier des charges de l'Utilisateur (CCU)**

Les spécifications concernant les équipements de fabrication doivent être définies dans un CCU. Ce cahier de charge constitue un point de référence tout au long du cycle de validation.

#### **5.4.2. Qualification de Conception (QC)**

Les spécifications définies dans le cahier des charges doivent être vérifiées pendant la qualification de la conception et la conformité aux exigences des BPF doit être démontrée et documentée.

Deux tests sont décrits dans le cadre de la qualification de la conception, le test d'acceptation en usine (TAU) réalisé chez le fournisseur avant la livraison et le test d'acceptation sur site (TAS) réalisé chez l'utilisateur à la livraison de l'équipement.

#### **5.4.3. Qualification d'installation (QI)**

La qualification d'installation (QI) doit être effectuée sur les équipements dès leur réception, elle a pour objet de s'assurer d'une installation correcte de ces équipements.

Sans être limitatif, la QI doit comporter les éléments suivants ;

- « Vérification de l'installation correcte des composants, de l'instrumentation, des équipements, des canalisations et des utilités par rapport aux schémas techniques et aux spécifications ;
- Vérification de la conformité de l'installation par rapport aux critères prédéfinis ;
- Collecte et regroupement des instructions de fonctionnement, de mise en œuvre, et des exigences de maintenance du fournisseur ;
- Étalonnage des instruments » [2].

### 5.4.4. Qualification opérationnelle (QO)

La qualification opérationnelle a pour objet de s'assurer du bon fonctionnement de l'équipement **partie par partie**, chacun des composants ou des éléments d'un équipement doit être vérifié de manière individuelle et qu'ils répondent aux spécifications préétablies.

Durant la QO, il est important de réaliser les tests confirmant les limites supérieures et inférieure d'utilisation, et/ou les conditions définissant le **pire cas** (« worst case ») [2].

### 5.4.5. Qualification des performances (QP)

La qualification des performances a pour objet de s'assurer du bon fonctionnement de l'équipement dans **son ensemble**. La QP est une **démarche globale**, elle permet de démontrer que l'équipement fonctionne conformément aux spécifications appropriées à son utilisation en routine.

### 5.4.6. Qualification périodique (requalification)

Les équipements, les installations, les utilités et les systèmes sont soumis régulièrement à des requalifications.

Les requalifications sont nécessaires dans les situations suivantes ;

- Opération de maintenance effectuée sur un équipement (panne, changement d'une pièce) et dont le fonctionnement peut être affecté.
- Déplacement de l'équipement.
- Périodiquement, cette périodicité doit être justifiée et les critères d'évaluation doivent être définis.

## 5.5. Habilitation du personnel

Les opérateurs chargés d'exécuter les procédures de nettoyage doivent être suffisamment formés et habilités à leur poste de travail. Deux types de formations doivent être assurées au personnel, celles qui sont générales et concernent les BPF et celles qui sont spécifiques au poste occupé par chaque opérateur [2, 6].

## 5.6. Méthodes d'analyse et méthodes de prélèvement

Des méthodes d'analyse et de prélèvement, adaptées au dosage de traces de contaminants doivent être mise au point et validées par le laboratoire de contrôle qualité.

## 6. Acteurs de la validation du nettoyage

La validation du nettoyage s'inscrit dans un contexte global de validation au sein d'une entreprise pharmaceutique. L'ensemble des structures concernées doit être mobilisé depuis la conception du procédé de nettoyage jusqu'à sa validation.

**6.1. Structures chargées du Développement (analytique et de formulation) :** Elles déterminent pour le produit en développement ;

- Les solvants de nettoyage et les solubilités des contaminants potentiels dans ces solvants, ainsi que la nettoyabilité des produits finis.

- Le protocole de nettoyage.
- Les limites et les critères d'acceptation de la validation du nettoyage.
- Les méthodes analytiques pour le dosage des traces des contaminants et leurs validations.
- Les méthodes de prélèvement.

### 6.2. Structure chargée de la production

- Définit la méthode d'échantillonnage en tenant compte de la nature des équipements, des points critiques et de la précision des analyses.
- Etudie la faisabilité et assure la logistique liée à la validation du nettoyage.
- Rédige et exécute les procédures de nettoyage.

**6.3. Le laboratoire de Contrôle qualité :** Le Laboratoire de contrôle qualité est une structure pivot dans la validation du nettoyage. Ces tâches sont multiples, les principales sont les suivantes ;

- Mise au point et validation des méthodes de dosage des contaminants à l'état de traces.
- Mise au point des méthodes de prélèvement et leur validation.
- Réalisation des prélèvements dans le cadre de la validation du nettoyage.
- Analyse les prélèvements au cours de la validation du nettoyage et contribution à l'interprétation des résultats.

### 6.4. Structure chargée de l'Assurance Qualité :

- Définit les critères d'acceptation avec les différents acteurs concernés
- Valide les modes opératoires de nettoyage, d'échantillonnage et de contrôle ainsi que les documents de suivi.
- Coordonne la validation du nettoyage entre la structure chargée de la production et celle chargée de contrôle qualité.
- Interprète les résultats de la validation du nettoyage et statue sur leur conformité.

**6.5. Le service Hygiène, Sécurité et Environnement (HSE) :** Est également impliqué pour vérifier que toutes les précautions de sécurité sont prises afin de ne pas exposer les opérateurs de nettoyage aux risques lors des démontages et lavages des pièces des équipements, l'ergonomie du poste de travail doit être adaptée. De même, ils sont en charge de s'assurer de la disponibilité des équipements de protection individuelle nécessaires [6].

A cela, il faut rajouter la structure chargée de la **maintenance** qui apporte son soutien à la production en s'occupant du maintien en bon état des équipements de production et du nettoyage.

### 6.6. La Direction Technique

- Veille à l'application de la réglementation en matière de validation du nettoyage et sa mise à jour de manière continue.
- Approuve les protocoles et les rapports de validation du nettoyage.

### 7. Stratégies de validation du nettoyage

En industrie pharmaceutique et en fonction de l'usage des équipements de production, deux (02) types de sites peuvent être rencontrés, les sites **mono-produits** qui fabriquent un seul produit et les sites **multiproduits**, pour lesquels plusieurs produits sont fabriqués sur le même site.

Parmi les sites multiproduits, nous pouvons distinguer ceux dont les équipements sont dédiés, assimilables à plusieurs sites mono-produits, et les sites multiproduits dont les équipements ne sont pas dédiés [3].

Dans le cas de sites mono-produits ou des entreprises ayant dédié des équipements pour chaque produit, le risque de contamination chimique entre les produits n'est pas élucidé étant donné qu'il s'agit des mêmes matières qui sont en contact avec les mêmes équipements, seule la contamination microbiologique est envisagée. Dans ce cas la validation du nettoyage est résumée à une seule pour chaque équipement ou un groupe d'équipement. La pratique de la validation du nettoyage revient moins coûteuse et plus simple à mettre en œuvre.

Cependant, dans les sites multiproduits où les équipements ne sont pas dédiés, plusieurs produits se trouvent fabriqués sur le même équipement et ce dernier est le siège de contamination entre les produits. Il est donc exigé à l'entreprise pharmaceutique de **valider le nettoyage pour chaque produit**, voir pour chaque équipement. Il en résulte un nombre important de validation du nettoyage à réaliser. Cette approche s'appelle validation **cas par cas**.

Les inconvénients de cette démarche sont très nombreux, parmi ;

1. Perte de temps et pertes économiques par immobilisation des équipements pour leur nettoyage et attente des résultats de contrôle des prélèvements.
2. Consommation accrue des détergents de nettoyage et des réactifs pour contrôle.
3. Réquisition d'un nombre important de personnel (opérateur, préleveurs et analystes) pour assurer la validation du nettoyage durant toutes ses étapes.

Une approche simplifiée pour la validation du nettoyage repose sur le groupage des produits et des équipements. Une analyse matricielle est proposée afin de rendre plus facile et plus pratique la validation du nettoyage, c'est l'approche **pires cas** ou « **worst case** » [1, 3-4, 6].

L'approche "pires cas" consiste à choisir ;

- L'équipement le plus difficile à nettoyer « équipement pire cas ».
- Le produit le plus difficile à éliminer « produit pire cas ».

**“ Si le nettoyage est validé pour l'équipement pire cas après fabrication du produit pire cas, il sera considéré comme étant valide pour les autres équipements après fabrication de tous les produits”.**

## CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE

La méthode des « **pires cas** » permet donc de diminuer considérablement le nombre de validation du nettoyage et d'en résumer toutes ces validations en une seule validation.

Le tableau VI compare entre les approches **cas par cas** et **pire cas** de la validation du nettoyage.

**Tableau VI : Comparaison entre l'approche pire cas et l'approche cas par cas [3].**

	<b>Approche « cas par cas »</b>	<b>Approche « pire cas »</b>
<b>Avantages</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Minimiser le risque de l'ajout de nouveaux produits en réalisant la validation pour chaque produit introduit.</li><li>- prélèvements réalisés sur tous les équipements intervenant dans la fabrication du produit</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Réduction du nombre d'essais à mettre en œuvre lors de la validation du nettoyage.</li><li>- Diminuer le nombre de prélèvements.</li><li>- Facilité l'introduction de nouveaux produits en évaluant les risques qu'ils entraînent.</li><li>- le produit peut être introduit dans le procédé sans aucune modification, à condition que son nettoyage suive la même procédure que les autres produits.</li></ul>
<b>Inconvénients</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Nombre important de validations</li><li>- Contraintes relatives aux ressources physiques et économiques.</li><li>- Difficulté de l'ajout de nouveaux produits dans une ligne de fabrication.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Nécessité d'évaluer le nouveau produit et de déterminer s'il constitue un nouveau « pire cas » ou bien s'il est couvert par le « pire cas » choisi lors de la validation nettoyage.</li></ul>

# **CHAPITRE III**

## **APPROCHES PIRES CAS ET VALIDATION DU NETTOYAGE**

Dans le domaine de l'industrie pharmaceutique, la majorité des entreprises sont des sites multiproduits. La méthode des **pires cas en validation du nettoyage** devient un choix incontournable du fait de ces nombreux avantages.

Dans ce chapitre, nous passerons en revue l'ensemble des approches pires cas rencontrées dans la validation du nettoyage, nous évoquerons dans un premier lieu l'approche basée sur des données physicochimiques et toxicologiques que nous qualifions d'ancienne ou de traditionnelle et nous détaillerons dans un second lieu la nouvelle approche basée sur le risque santé et la détermination de la **PDE** (Permitted Daily Exposure) exigée par les BPF [2] et conformément à la méthodologie décrite par la ligne directrice de l'EMA [36].

### 1. Validation du nettoyage des équipements de fabrication pharmaceutique : Ancienne approche ou approche traditionnelle

Traditionnellement, La stratégie des pires cas est basée d'une part, sur des données physicochimiques et toxicologiques et d'autre part, sur le groupage des produits et des équipements. Il s'agit de choisir un produit le plus défavorable en matière de nettoyage. Cette approche repose sur le principe suivant ;

**“Si une procédure de nettoyage élimine le produit le plus critique d'une gamme de production au dessous d'une certaine valeur acceptable, le nettoyage des autres produits par la même procédure sera aussi efficace” [1-3, 6].**

La stratégie des pires cas selon l'approche traditionnelle s'articule principalement sur les éléments suivants :

- Choix du contaminant pire cas, appelé aussi **traceur** de la validation du nettoyage.
- Choix des équipements pires cas par la méthode de groupage.
- Détermination des critères d'acceptation permettant de statuer sur l'efficacité du nettoyage.
- Mise au point et validation des méthodes d'analyses adaptées aux dosages des contaminants à l'état de traces.
- Mise au point et validation des méthodes de prélèvement et détermination des taux de recouvrement.
- Reproductibilité des procédés du nettoyage.
- Validation du temps écoulé entre la fabrication et le nettoyage (Durée maximale de l'état sale de l'équipement).
- Validation du temps écoulé entre le nettoyage et l'utilisation de l'équipement (Durée maximale de l'état propre de l'équipement).
- Revalidation et maîtrise des changements.

### 1.1. Choix du traceur

Le traceur est le contaminant à rechercher au cours de la validation du nettoyage. Ce contaminant peut être un agent chimique ou un microorganisme. De ce fait, deux types de traceurs sont distingués ; traceur physicochimique et traceur microbiologique. Les critères de sélection sont propres à chaque type [1, 3].

#### 1.1.1. Choix du traceur physicochimique

En analyse physicochimique, le traceur peut être un principe actif, un excipient, un agent de nettoyage ou bien un produit de dégradation.

Compte tenu de l'absence d'activité pharmacologique, de toxicité et des méthodes de dosage spécifique pour la majorité des excipients. Le plus souvent, **le traceur physicochimique est un principe actif**, son identification est basée sur l'établissement des **critères de sélection**. Ainsi, pour tout médicament fabriqué, il est nécessaire de connaître [3] ;

- La solubilité des principes actifs dans le solvant de nettoyage (eau).
- La nettoyabilité du produit fini.
- La toxicité des principes actifs.

A ces critères, peut s'ajouter dans le cas des antibiotiques, le pouvoir allergisant ou sensibilisant.

Afin de déterminer le produit pire cas, chacun des critères précédemment cités est coté d'un coefficient, une échelle est dégagée par la suite pour chaque critère.

##### 1.1.1.1. Critère – Solubilité

La solubilité est la **quantité maximale** d'une substance qui peut être **dissoute** dans un **volume** d'un solvant. C'est un rapport numérique qui exprime une quantité de matière par rapport à un volume d'un solvant.

La pharmacopée européenne [30], décrit une méthodologie pour l'estimation de la solubilité. « Toute indication de solubilité est à exprimer dans les termes définis dans les Prescriptions Générales ». Le tableau VII définit les termes descriptifs de la solubilité d'un composé.

**Tableau VII : Termes descriptifs de la solubilité selon la pharmacopée européenne [30].**

Termes descriptifs	Volumes approximatifs de solvants en millilitres par grammes de solvants			
Très soluble	inférieur à	1		
Facilement soluble	de	1	à	10
Soluble	de	10	à	30
Assez soluble	de	30	à	100
Peu Soluble	de	100	à	1000
Très peu soluble	de	1000	à	10000
Pratiquement insoluble	plus de			10000

Pour chaque terme, un coefficient peut être attribué et une l'échelle de solubilité est établie.

**1.1.1.2. Critère – Nettoyabilité**

La nettoyabilité d'un médicament est l'aptitude d'un procédé à ne pas laisser des traces visibles après nettoyage d'un équipement et à l'issue de sa fabrication [2].

L'évaluation de ce critère repose sur un historique de nettoyage des équipements après fabrication de chaque produit. Un opérateur qualifié et expérimenté dans le nettoyage est souvent consulté pour noter ce critère.

**1.1.1.3. Critère – Toxicité**

En termes de validation du nettoyage, la toxicité évalue le risque de la contamination sur la santé humaine, elle est chiffrée par la dose létale 50 (DL 50), « c'est la quantité d'une substance qui cause la mort de 50% d'une population d'animal, soumise à l'étude de toxicité aiguë par une voie d'administration. Elle est exprimée en quantité de la substance (en mg ou en g) par unité de poids corporel de l'animal (en Kg) » [31].

L'échelle de toxicité choisie est celle établie par **Hodge et Sterner** [31]. Elle est présentée dans le tableau VIII.

**Tableau VIII : Echelle de toxicité établie par Hodge et Sterner [31].**

Termes descriptifs de la toxicité	DL 50 par voie orale
Relativement inoffensif	> 15 g / Kg
Presque pas toxique	5 – 15 g / Kg
Légèrement toxique	0,5 – 5 g / Kg
Modérément toxique	50 – 500 mg / Kg
Hautement toxique	1 - 50 mg / Kg
Extrêmement toxique	< 1 mg / Kg

**1.1.1.4. Critères de décision**

Le choix d'un produit pire cas (appelé aussi **worst case**) est fait en fonction des données de solubilité, de nettoyabilité et de toxicité. Le traceur est défini comme étant ; **Le composé le plus insoluble, le plus difficile à nettoyer et le plus toxique** [1-3, 6].

**1.1.2. Choix du traceur microbiologique**

**1.1.2.1. Aperçu sur les micro-organismes rencontrés dans la contamination microbienne**

En industrie pharmaceutique, les ateliers de fabrication ainsi que le laboratoire de contrôle qualité sont des zones à atmosphères contrôlées, les flux d'air, des matières et des personnes sont rigoureusement définis par les BPF de sorte à minimiser le contact des équipements et des produits fabriqués avec l'environnement extérieur et les personnes. Il en résulte de cette organisation, un nombre très restreint de micro-organismes responsables de la contamination microbienne, l'origine de ces micro-organismes peut être ;

- **Le personnel (opérateurs de production, analystes de laboratoire)** : Essentiellement des micro-organismes de la flore cutanée ou buccale (Staphylocoques, candida) ou ceux liés au non respect des règles d'hygiène (germes fécaux tels que les entérobactéries (*Escherichia coli*) et les clostridies) [2].

- **L'eau** : L'eau alimentant l'entreprise (eau de forage, eau de ville) peut être une source de contamination en cas de défaillance des systèmes de purification de l'eau utilisée dans la fabrication et le nettoyage des équipements.

Les germes les plus fréquents sont : le *Pseudomonas aeruginosa* et les salmonelles [32].

- **L'environnement** : En cas de défaillance ou du non respect des règles de gestion des flux citées précédemment, une contamination par des moisissures peut être rencontrée.

Les moisissures les plus recherchées sont du genre *Aspergillus* [32].

### 1.1.2.2. Notions de dénombrement microbien et de la recherche des germes spécifiés

Pour les médicaments non obligatoirement stériles (médicaments à usage par voies orales, rectales ou à application cutanée), deux types de tests microbiologiques sont exigés par la pharmacopée européenne, à savoir, le dénombrement microbien et la recherche des germes spécifiés [32].

#### A. Dénombrement microbien

Les tests microbiologiques regroupés sous ce titre permettent le dénombrement des bactéries mésophiles et les moisissures et levures capables de croître en aérobiose [32].

- **Dénombrement des Germes Aérobie Totaux (DGAT)** : Ce test permet le dénombrement des bactéries qui poussent en aérobiose sur un milieu gélosé aux peptones de soja et de caséine à 30 – 35°C pendant 3 – 5 Jours. A la fin du test, le nombre d'unité formant colonie (ufc) est calculé.
- **Dénombrement des Moisissures et des Levures Totales (DMLT)** : Ce test permet le dénombrement des levures et des moisissures sur un milieu sabouraud dextrosé – gélosé à 20 –25°C pendant 5 – 7 Jours. A la fin du test, le nombre d'unité formant colonie (ufc) est calculé.
- **Interprétation des résultats** : Les résultats sont interprétés selon la pharmacopée européenne comme suit ;
  - « Le nombre de germes aérobies totaux (DGAT) est considéré comme égal au nombre d'ufc obtenues avec le milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja ; si des colonies de moisissures ou levures sont détectées sur ce milieu, elles sont comptabilisées dans le DGAT »
  - « Le nombre total de moisissures et de levures (DMLT) est considéré comme égal au nombre d'ufc obtenues avec le milieu Sabouraud dextrosé-gélosé ; si des colonies de bactéries sont détectées sur ce milieu, elles sont comptabilisées dans le DMLT. Si l'on prévoit que le DMLT risque de dépasser le critère d'acceptation du fait de la croissance bactérienne » [32].

Pour la majorité des médicaments, les valeurs de DGAT varient entre  $10^1$  et  $10^4$  et les valeurs de la DMLT varient entre  $10^1$  et  $10^3$  unités de mesure.

### B. Recherche des germes spécifiés

Les tests microbiologiques regroupés sous ce titre ont pour objet de contrôler l'absence ou la présence limitée des microorganismes spécifiés pouvant être décelés dans des conditions appropriées [32].

**Les microorganismes recherchés dans le cadre des essais microbiologique des produits pharmaceutiques et qui peuvent être à l'origine de la contamination lors de la validation du nettoyage sont [33] ;**

➤ **Microorganismes aerobies :**

- *Staphylococcus aureus.*
- *Pseudomonas aeruginosa.*
- *Escherichia coli.*
- *Salmonella enterica.*
- *Candida albicans.*

➤ **Microorganismes anaérobies : *Clostridium sporogenes***

Le tableau IX résume les limites d'acceptation pour les deux tests microbiologiques pour chaque forme pharmaceutique.

Tableau IX – Critères d’acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles (Pharmacopée européenne 6<sup>ème</sup> éd, Tableau 5.1.4.-1)

Voies d’administration	DGAT (ufc/g ou ufc/ml)	DMLT (ufc/g ou ufc/ml)	Microorganismes spécifiés
Voie orale : préparations non aqueuses	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	Absence d’ <i>Escherichia coli</i> (1 g ou 1 ml)
Voie orale : préparations aqueuses	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Absence d’ <i>Escherichia coli</i> (1 g ou 1 ml)
Voie rectale	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	/
Voie buccale Voie gingivale Voie cutanée Voie nasale Voie auriculaire	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ou 1 ml) Absence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ou 1 ml)
Voie vaginale	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Absence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ou 1 ml) Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ou 1 ml) Absence de <i>Candida albicans</i> (1 g ou 1 ml)
Voie transdermique (limites pour un dispositif transdermique, film protecteur et support compris)	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 dispositif) Absence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 dispositif)
Inhalation (des exigences spécifiques s’appliquent aux préparations liquides dispensées au moyen de nébuliseurs)	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ou 1 ml) Absence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ou 1 ml) Absence de bactéries gram-négatives résistantes aux sels biliaires ( <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i> et (1 g ou 1 ml)
Disposition spéciale de la Ph. Eur. Pour les préparations pour administration orale contenant des matières premières d’origine naturelle (animale, végétale ou minérale), lorsqu’un prétraitement antimicrobien est impossible et que l’Autorité compétente admet une DGAT des matières premières supérieure à 10 <sup>3</sup> UFC par gramme ou par millilitre.	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	Au maximum 10 <sup>2</sup> UFC de bactéries gram-négatives résistantes aux sels biliaires (1 g ou 1 ml) Absence de salmonelles (10 g ou 10 ml) Absence d’ <i>Escherichia coli</i> (1 g ou 1 ml) Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ou 1 ml)

### 1.1.2.3. Critères de sélection d'un produit pire cas en vue de l'analyse microbiologique

Le choix du traceur microbiologique tient compte de plusieurs critères. Généralement les critères suivants sont considérés comme critères de sélection ;

- Limites d'acceptation.
- Présence ou absence d'une activité anti microbienne.
- Échelle de nettoyabilité.

### 1.1.2.4. Critères de décision

Le traceur microbiologique est défini comme étant **le produit ayant la limite d'acceptation adéquate, le plus difficile à nettoyer et celui dépourvu d'activité antimicrobienne.**

## 1.2. Groupage des équipements et détermination des équipements pires cas

Pour un produit pire cas, les équipements de fabrication peuvent être regroupés en fonction de leur qualité (design), leur capacité et la présence des parties difficilement accessibles au nettoyage [3].

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

- Des surfaces **moins lisses** auxquelles peuvent s'adhérer les produits et les microorganismes ;
- Des zones **difficilement accessibles** au nettoyage ;
- La plus **grande capacité** [3].

**La validation du nettoyage de l'équipement pires cas d'un groupe entraîne celle de l'ensemble des équipements de ce groupe.**

## 1.3. Etablissement des critères d'acceptation

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

De point de vue réglementaire, il n'existe pas d'exigences relatives aux critères d'acceptation, compte tenu de la multitude des produits fabriqués et des différentes formes existantes.

Cependant, le guide de la FDA précise que les limites doivent être **logiques, pratiques, réalisables et vérifiables** [22].

La **contamination maximale résiduelle tolérable** doit être déterminée de manière **scientifique** et documentée.

Les paramètres à considérer dans l'établissement des critères d'acceptation sont ;

- Le **contaminant** : Sa nature, son potentiel pharmacologique, toxique et allergique.
- L'**équipement** : Sa capacité, ses points critiques.
- Le **produit contaminé** : Taille du lot, posologie du traitement.

Il appartient à chaque entreprise de fixer et de justifier ses critères d'acceptation.

**1.3.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique**

**1.3.1.1. Critères visuels :** Après nettoyage d'un équipement, l'opérateur chargé du nettoyage doit vérifier l'absence des taches visibles des produits à l'œil nu. Généralement, on admet que les résidus du produit sont visibles a une teneur de 1 à 4 µg /cm<sup>2</sup> [3].

Un autre point à prendre en considération, est l'aspect des prélèvements pour contrôle. Il est demandé de vérifier que les outils de prélèvement ne changent pas d'aspect (exemple, écouvillons ne présentant pas de taches de produits, les eaux de rinçage restent claires et ne contiennent pas de particules étrangères visibles à l'œil nu).

**1.3.1.2. Critère des 10 ppm :** Au maximum, 10 mg de produit précédent peuvent contaminer 1kg de produit suivant [3].

– **Pour le prélèvement par écouvillonnage :** La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante ;

$$\text{Limite résiduelle}_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{10 \times L_B \times A_S \times 10^3}{W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$

$L_B$  : Taille minimale du lot de produit suivant B en Kg.

$A_S$  : surface prélevée en m<sup>2</sup> (souvent  $A_S = 100 \text{ cm}^2 = 0,01 \text{ m}^2$ ).

$W_S$  : Surface commune (de contamination) entre le produit A et le produit B en m<sup>2</sup>

– **Pour le prélèvement par les eaux de rinçage :** La limite résiduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rinçage est donnée par la formule suivante ;

$$\text{Limite résiduelle}_{\text{Eaux de rinçage}} = \frac{10 \times L_B}{V} \text{ en } \mu\text{g/ml}$$

$V$  : Volume d'eau de rinçage utilisé pour le rinçage final (en litre).

**1.3.1.3. Critère du 1/1000<sup>eme</sup> :** Au plus, 1/1000<sup>eme</sup> de la dose minimale journalière du produit précédent A peut contaminer la dose maximale journalière du produit suivant B [3].

– **Pour le prélèvement par écouvillonnage :** La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante ;

$$\text{Limite résiduelle}_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{T_A \times L_B \times A_S \times 10^6}{T_B \times W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$

Avec ;

- $T_A$  : Dose thérapeutique journalière minimale du produit précédent A (contaminant) en mg/jour.
- $T_B$  : Dose thérapeutique journalière maximale du produit suivant B (contaminé) en mg/jour.

- $L_B$  : Taille minimale du lot de produit suivant B en Kg.
- $A_S$  : surface prélevée en  $m^2$  (souvent  $A_S = 100 \text{ cm}^2 = 0,01 \text{ m}^2$ ).
- $W_S$  : Surface commune (de contamination) entre le produit A et le produit B en  $m^2$ .
- **Pour le prélèvement par les eaux de rinçage** : La limite résiduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rinçage est donnée par la formule suivante ;

$$\text{Limite résiduelle}_{\text{Eaux de rinçage}} = \frac{T_A \times L_B \times 10^3}{T_B \times V} \text{ en } \mu\text{g/ml}$$

V : Volume d'eau de rinçage utilisé pour le rinçage final (en litre).

Note : D'après une étude publiée dans la revue Pharmaceutical Technology par CREVOISIER. M et al [35], il a été recommandé d'abandonner les deux limites (10 ppm et le millième de la dose thérapeutique).

**1.3.1.4. MACO (Maximal Allowable Carry Over)** : La contamination croisée maximale acceptable prend en compte les données toxicologiques, les posologies, la forme pharmaceutique et les tailles du lot des produits [3].

Deux approches sont rencontrées :

➤ **Approche faisant appel aux doses thérapeutiques**

Cette méthode est utilisée lorsque le traceur est un **principe actif**.

- **Pour le prélèvement par écouvillonnage** : La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante ;

$$MACO_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{T_A \times L_B \times A_S \times F_S \times 10^9}{T_B \times W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$

- ✓ MACO : Est le seuil maximal de produit résiduel en  $\mu\text{g/surface prélevée}$ .
- ✓  $S_F$  : Est un facteur de sécurité, dont la valeur dépend de la forme galénique du produit [3] :
  - Pour les formes parentérales (orales et rectales) :  $S_F = 0,001$ .
  - Pour les formes ophtalmiques :  $S_F = 0,0002$ .
  - Pour les formes injectables :  $S_F = 0,0001$ .
  - Pour les formes topiques (pommades, crèmes gels, ...) :  $S_F = 0,01$ .
- ✓  $T_A$  : Dose thérapeutique journalière minimale du produit précédent A en mg.
- ✓  $T_B$  : Dose thérapeutique journalière maximale du produit suivant B en mg.
- ✓  $L_B$  : Taille minimale du lot de produit suivant B en Kg.
- ✓  $A_S$  : Surface prélevée en  $m^2$  (souvent  $A_S = 100 \text{ cm}^2 = 0,01 \text{ m}^2$ ).
- ✓  $W_S$  : Surface commune entre le produit A et le produit B en  $m^2$ .
- ✓  $10^9$  : Facteur de conversion du Kg au  $\mu\text{g}$ .

- Pour le prélèvement par les eaux de rinçage : La limite résiduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rinçage est donnée par la formule suivante ;

$$MACO_{Eaux\ de\ rin\cage} = \frac{T_A \times L_B \times 10^6}{T_B \times V} \text{ en } \mu\text{g/ml}$$

V : Volume d'eau de rinçage en litre utilisé pour le rinçage final (en litre).

➤ **Approche faisant appel à la dose létale 50**

Les calculs préliminaires sont les suivants [4] ;

$$NOEL = DL_{50} \times 0,0005$$

$$ADI = NOEL \times S_F$$

- ✓ NOEL est la No Observed Effect Level, soit le niveau où aucun effet n'est observé (en mg/kg de poids corporel/jour).
- ✓ DL<sub>50</sub> est la dose létale pour 50% d'une population d'animaux, exprimée en mg/kg de poids corporel.
- ✓ ADI est l'Acceptable Daily Intake, soit le niveau acceptable administré par jour (en mg/kg de poids corporel/ jour).
- ✓ S<sub>F</sub> : Facteur de sécurité.

- Pour le prélèvement par écouvillonnage : La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante ;

$$MACO_{Ecouvillonnage} = \frac{DL_{50} \times 0,0005 \times 70 \times F_S \times L_B \times A_S \times 10^9}{T_B \times W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$

- ✓ 70 (kg) représente le poids corporel moyen d'un être humain.
- ✓ 10<sup>9</sup> : Facteur de conversion du Kg au µg.

- Pour le prélèvement par les eaux de rinçage : La limite résiduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rinçage est donnée par la formule suivante ;

$$MACO_{Eaux\ de\ rin\cage} = \frac{DL_{50} \times 0,0005 \times 70 \times F_S \times L_B \times 10^6}{T_B \times V} \text{ en } \mu\text{g/ml}$$

V : Volume d'eau de rinçage en litre utilisé pour le rinçage final.

**1.3.1.5. ARL (Acceptable Residuel Level) [34].**

La limite résiduelle acceptable (ARL) est obtenue par combinaison du critère 10 ppm et les données utilisées pour le calcul du MACO.

- Pour le prélèvement par écouvillonnage : La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante ;

$$ARL_{Ecouvillonnage} = \frac{T_A \times F_S \times 10^6}{T_B} \times \frac{L_B \times A_S \times 10^3}{W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$

$$MAR = \frac{T_A \times F_S \times 10^6}{T_B} \text{ en ppm}$$

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{MAR \times L_B \times A_S \times 10^3}{W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface pr\u00e9lev\u00e9e}$$

- ARL : Acceptable Residuel Level (Limite r\u00e9siduelle acceptable).
  - MAR (Maximum Allowable Residual) : Chiffre la contamination du produit B par un produit A en tenant compte de la voie d'administration (Facteur de s\u00e9curit\u00e9  $F_S$  associ\u00e9), il est exprim\u00e9 en partie par million (multiplication par  $10^6$ ). Si  $MAR > 10$  sa valeur est arrondie \u00e0 10 (limite de 10 ppm).
  - $T_A$  : dose journali\u00e8re minimale du produit pr\u00e9c\u00e9dent (contaminant) A en mg/jour.
- La dose journali\u00e8re minimale d'un m\u00e9dicament d\u00e9pend de la forme et du dosage de produit ;
- \u2794 **M\u00e9dicaments uni-doses** (comprim\u00e9, g\u00e9lule, suppositoire, injectable...) : dose unitaire ou sa fraction (comprim\u00e9s s\u00e9cables).
  - \u2794 **M\u00e9dicaments multi-doses** (sirops, gouttes buvables, pommades, gels, cr\u00e8mes...) : d\u00e9pend du dosage et de la pathologie trait\u00e9 et de son ampleur.
- $T_B$  : Dose th\u00e9rapeutique journali\u00e8re maximale du produit suivant B en mg.
  - $L_B$  : Taille minimale du produit suivant B en Kg.
  - $A_S$  : surface pr\u00e9lev\u00e9e en  $m^2$  (souvent  $A_S = 100 \text{ cm}^2 = 0,01 \text{ m}^2$ ).
  - $W_S$  : Surface commune entre le produit A et le produit B en  $m^2$ .
  - $10^3$  : Facteur de conversion du mg au  $\mu\text{g}$ .
  - **Pour le pr\u00e9l\u00e8vement par les eaux de rin\u00e7age** : La limite r\u00e9siduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rin\u00e7age est donn\u00e9e par la formule suivante ;

$$ARL_{\text{Eaux de rin\u00e7age}} = \frac{MAR \times L_B}{V} \text{ en } \mu\text{g/ml}$$

V : Volume d'eau de rin\u00e7age en litre utilis\u00e9 pour le rin\u00e7age final.

### Remarque importante

La FDA stipule que les limites d'acceptation doivent \u00eatre **logiques** [22]. Lorsqu'une limite est jug\u00e9e trop \u00e9lev\u00e9e pour exprimer la teneur r\u00e9siduelle d'une contamination, il est possible de la r\u00e9duire \u00e0 des valeurs relevant de l'\u00e9tat de traces.

### 1.3.2. Limites d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique

Pour d\u00e9terminer les limites d'acceptation en analyse microbiologique, sont consult\u00e9es les limites (sp\u00e9cifications en ufc) d\u00e9crites dans les pharmacop\u00e9es pour les essais concernant la qualit\u00e9 microbiologique des produits pharmaceutiques [30].

Par exemple pour le d\u00e9nombrement microbien, la limite retenue par la pharmacop\u00e9e europ\u00e9enne pour le contr\u00f4le microbiologique de l'eau est de  $10^4$  ufc/100 ml.

### 1.4. Méthodes d'analyse

Dans le cadre de la validation du nettoyage, des outils analytiques puissants qui permettent de détecter les traces de contaminants (chimiques ou microbiologiques) sont exigées. Chaque méthode doit faire objet de validation préalable conformément aux exigences réglementaires en vigueur.

La méthode analytique utilisée lors de la validation du nettoyage doit être spécifique au produit choisi comme « pire cas ». Les principales propriétés de telle méthode sont ;

- Une sensibilité suffisante pour pouvoir détecter la substance cible et la quantifier à des niveaux compatibles avec les limites d'acceptation.
- La capacité de détecter la substance cible en présence d'autres substances dans l'échantillon (sélectivité) [3, 6].

#### 1.4.1. Méthodes d'analyses physicochimiques

En analyse physicochimique, plusieurs types de méthodes analytiques sont rencontrés dans le cadre de la validation du nettoyage pour quantifier la contamination, en fonction de la spécificité de la méthode au produit pire cas, deux classes sont distinguées [3] :

**1.4.1.1. Méthodes spécifiques :** Permettent de doser directement le principe actif dans les prélèvements (écouvillonnage et eaux de rinçage), parmi ces méthodes, la Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) demeure la méthode de choix compte tenu de sa sélectivité (méthode séparative). La validation de ces méthodes est abordée dans le chapitre IV.

**1.4.1.2. Méthodes non spécifiques :** Ces méthodes permettent de déceler le changement d'une propriété physique ou physicochimique d'un prélèvement (eaux de rinçage) par rapport à un témoin (eau purifiée). L'écart mesuré dépend de la quantité du contaminant.

Parmi ces méthodes, on cite : la pH-métrie, la conductimétrie, mais la méthode la plus utilisée est la mesure du carbone organique total (Total Organic Carbon en anglais).

Cette méthode mérite un bref rappel tant pour son principe que pour ses avantages et inconvénients.

**Principe de la méthode TOC :** L'échantillon de contaminants contenant des composés carbonés est introduit dans un tube et chauffé à une température appropriée en présence d'un catalyseur agissant comme oxydant. Les composés d'oxydation et de dégradation sont libérés sous forme de CO<sub>2</sub>. Le volume dégagé est quantifié par comparaison à une courbe d'étalonnage. La quantité de CO<sub>2</sub> trouvée est proportionnelle à la concentration de contaminants résiduels dans l'échantillon [1, 6].

### CHAPITRE III : APPROCHES PIRES CAS ET VALIDATION DU NETTOYAGE

- **Avantage** : La méthode TOC permet de détecter toute sorte de contamination organique (principe actifs, excipient, agent de nettoyage et une contamination étrangère) de manière non spécifique.
- **Inconvénient** : Cette méthode nécessite un équipement relativement cher, en plus, les étalons ont souvent une courte durée de validité et un prix exorbitant. Ceci confère à la méthode un cout de revient très élevée.

Les principales techniques analytiques rencontrées dans le cadre de la validation du nettoyage sont citées dans le tableau X.

**Tableau X : Principales techniques analytiques utilisées au cours de la validation du nettoyage [3].**

Avantages	Inconvénients	Applications
<b>Inspection visuelle / caractères organoleptiques</b>		
Simple, résultat immédiat Non invasif Pas de préparation d'échantillon	Qualitatif Non spécifique	Résidus chimiques Excipients Agent de nettoyage
<b>pH-métrie</b>		
Rapide Peu coûteux Peut être adapté à la surveillance en ligne	Non spécifique Se limite aux composés solubles dans l'eau. Peut sensible	Agent de nettoyage Contaminants acides ou basiques
<b>Conductimétrie</b>		
Rapide Peut être adapté à la surveillance en ligne	Non spécifique Peut sensible	Agent de nettoyage Contaminants ionisés (sels, MP chargée)
<b>Dosages acido-basiques</b>		
Quantification précise Seuil de détection satisfaisant	Non spécifique Peut sensible	Agent de nettoyage Contaminants acides ou basiques
<b>CCM (Chromatographie sur Couche Mince)</b>		
Spécifique Peu coûteux	Sensibilité insuffisante dans certains cas.	Résidus chimiques Excipients.
<b>CLHP (Chromatographie Liquide à Haute Performance)</b>		
Spécifique Suffisamment sensible et spécifique Quantification précise	Appareillage et personnel qualifiés nécessaires Méthode plus coûteuse	Résidus chimiques Excipients Agents de nettoyage
<b>COT (Carbone Organique Total)</b>		
Applicable aux produits organiques et hydrosolubles Haute sensibilité	Non spécifique Appareillage et réactifs étalon très coûteux	Résidus chimiques Excipients, Agent nettoyage Contaminants biologiques (Protéines)

**1.4.1.3. Avantages et inconvénients des méthodes analytiques**

Toutes les méthodes analytiques, spécifiques ou non spécifiques, présentent des avantages et des inconvénients à prendre en considération.

Le tableau XI résume les avantages et inconvénients de chaque méthode d'analyse.

**Tableau XI : Avantages et inconvénients des méthodes analytiques [3].**

	Méthodes spécifiques	Méthodes non spécifiques
<b>Avantages</b>	Dosage précis du traceur	Facile à mettre en œuvre Détection d'un mélange de contaminants résiduels Peu Coûteuses.
<b>Inconvénients</b>	Temps de développement long. Temps d'analyse important. Coûteuses. Sous estimer la quantité totale de souillures	Pas de séparation des composés dosés.

**1.4.2. Méthodes d'analyses microbiologiques**

En industrie pharmaceutique et à l'exception des médicaments stériles, le contrôle microbiologique des produits non stériles est réalisé le plus souvent par la méthode de filtration sur membrane ou par la méthode de dénombrement sur plaque. La méthode du nombre le plus probable (NPB) est recommandée lorsque le dénombrement microbien ne peut être réalisé par l'une des deux premières, en raison de la nature du produit (corps gras) ou du nombre de micro-organismes présumé [32].

**1.4.2.1. Méthode de filtration sur membrane**

L'isolement des micro-organismes est réalisé par la filtration sur des membranes filtrantes de porosité nominale inférieure ou égale à **0,45 µm**, pour lesquelles l'efficacité de rétention microbienne a été démontrée au préalable. Une attention toute particulière doit être apportée au matériau constituant la membrane. En effet, le produit à examiner ou l'un de ses constituants ne doit pas modifier l'efficacité de rétention bactérienne.

En générale, Les membranes à base de nitrate de cellulose sont utilisées lorsqu'il s'agit des solutions aqueuses, huileuses ou faiblement alcooliques et des membranes d'acétate de cellulose pour des solutions fortement alcooliques.

Pour le dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT), La membrane est transférée sur un milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja, pour le dénombrement des moisissures et des levures totales (DMLT), transférer la membrane sur un milieu sabouraud dextrosé gélosé [32].

**1.4.2.2. Méthode de dénombrement sur plaques**

Deux façons sont envisageables pour la réalisation de cette technique ;

– **Technique par ensemencement en profondeur**

L'échantillon (de l'ordre de **1 ml**) est introduit dans une boîte de pétri puis mélangé à un milieu gélosé liquéfié adapté soit à la culture des bactéries, soit à la culture des moisissures et des levures à une température ne dépassant pas **45 °C** pendant 5 jours [32].

– **Technique par étalement en surface**

L'échantillon de **0,1 ml** au moins est étalé à la surface de boîtes de pétri dans lesquelles sont été coulés puis solidifiés des milieux gélosés appropriés à la culture des bactéries ou des moisissures et levures. Le test est de même réalisé en double, les conditions d'incubation sont effectués comme précédemment [32].

**1.4.2.3. Autres méthodes d'analyses microbiologiques**

– **Test de l'essai des endotoxines bactériennes (Test LAL)**

L'essai des endotoxines bactériennes est destiné à la détection ou la quantification des endotoxines produites par des bactéries gram-négatives, au moyen d'un lysat d'amoebocytes de limule (*Limulus polyphemus* ou *Tachypleus tridentatus*) [10].

- **Cytométrie à flux** : Permet un dénombrement des cellules (microorganisme) en milieu liquide.
- **Bioluminescence et EPI fluorescence** : Ces deux techniques sont considérées comme des tests rapides.

**Tableau XII : Comparaison des différentes méthodes microbiologiques [10].**

Avantages	Inconvénients
<b>Filtration sur membrane</b>	
Méthode décrite par la pharmacopée européenne. Permet une concentration des échantillons dilués. Présente une bonne sensibilité.	Temps d'analyse relativement long, les résultats sont obtenus dans 7 jours environ. Méthode utilisée uniquement pour les échantillons liquides.
<b>Ensemencement direct</b>	
Méthode décrite par la pharmacopée européenne en vigueur. Convient aux échantillons liquides et solides	Temps d'analyse relativement long, les résultats sont obtenus dans 14 jours environ.
<b>Test LAL</b>	
Méthode décrite par la pharmacopée européenne.	S'applique uniquement aux préparations stériles (parentérales)
<b>Bioluminescence / EPI fluorescence</b>	
Très rapide Méthode quantitative	Peu sensible, Peu spécifique

### 1.5.Méthodes de prélèvements

#### 1.5.1. Prélèvements en vue de l'analyse physicochimique

##### 1.5.1.1. Prélèvement direct

Le prélèvement direct est pratiqué sur une surface définie de l'équipement, elle permet de recueillir la contamination résiduelle du contaminant (principe actif, excipient, produit de dégradation ou détergent). Le prélèvement est réalisé soit par contact, par essuyage ou par écouvillonnage [25].

**La méthode par écouvillonnage** (swabing en anglais) reste la méthode la plus utilisée en raison de son rendement très élevé. Ce rendement est le résultat de l'usage concomitant de l'action physique et chimique par imprégnation dans des solvants appropriés.

L'emploi du solvant a pour objet de solubiliser le contaminant s'il est présent et d'entraîner son déplacement de la surface de l'équipement vers l'écouvillon. Cependant, ce solvant (ou un mélange de solvants) doit répondre à un certain nombre de propriétés assurant son innocuité et sa sécurité d'utilisation ;

- Un bon pouvoir solubilisant du contaminant.
- Inertie chimique vis-à-vis de la contamination et non dégradation de celle-ci.
- Dénué de toxicité de sorte à ce qu'il ne soit pas source de contamination pour l'équipement, le personnel et pour le produit.

En pratique, et pour les raisons suscitées, les deux solvants qui sont utilisés pour le prélèvement sont **l'éthanol et l'eau**.

L'éthanol est un solvant mixte, il solubilise les substances organiques (apolaires) et inorganiques (polaires).

L'eau est rarement utilisée seule comme solvant en raison de la non solubilité d'un grand nombre de principes actifs, cependant, les solutions aqueuses acides ou basiques peuvent être utilisées, la solubilité de certains principes actifs dépend de pH.

**Le prélèvement direct est le seule préconisé par la FDA**, il possède l'avantage d'associer une action chimique et une action mécanique.

Le prélèvement par écouvillonnage utilise des écouvillons spéciaux, fabriqués à l'aide des matériaux chimiquement et physiquement inertes et qui ne relarguent pas de particules, parmi ces matériaux, on rencontre les polymères de styrènes.

En outre, ce type de prélèvement nécessite la définition des points à prélever, le nombre de ces derniers dépend de la qualité (design) et de la taille de l'équipement.

Les points critiques difficilement accessibles par la solution de nettoyage sont ceux ciblés par ce type de prélèvement. En terme de surface, il faut couvrir l'ensemble de l'équipement afin d'éviter les zones d'ombre [25].

### Technique de prélèvement

- Prélever la totalité de la surface délimitée à l'aide d'un pochoir, en utilisant un écouvillon imbibé d'un solvant de prélèvement adéquat puis retourner l'écouvillon.
- Recommencer le prélèvement avec l'autre face en utilisant le sens vertical.
- Répéter l'opération avec un second écouvillon humide sur la même surface.
- Ecouvillonner cette même surface avec un troisième écouvillon sec.
- Réunir les trois (03) écouvillons dans un tube à vis.

La figure 11 explicite la technique de prélèvement par écouvillonnage en vue d'analyse physicochimique.

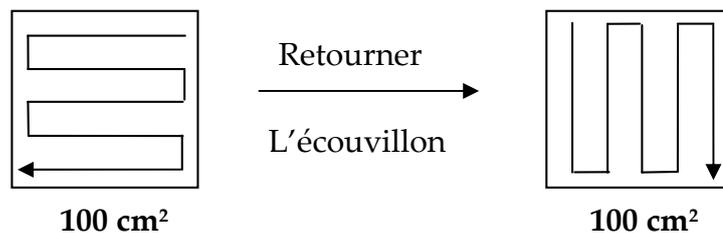


Figure 11 : Technique de prélèvement physicochimique par écouvillonnage [25].

#### 1.5.1.2. Prélèvement indirect ou par solutions de rinçage

Ce mode de prélèvement consiste à rincer ou à pulvériser une quantité déterminée de solvant, **le plus souvent l'eau**, sur l'ensemble ou les parties critiques de l'équipement.

L'avantage de cette méthode est qu'elle permet d'échantillonner une surface plus large et donc plus représentative de la propreté de l'ensemble des équipements. Le seul point négatif de cette méthode est sa très faible action mécanique, donc de son faible rendement de prélèvement.

En pratique plusieurs cycles de rinçage peuvent être pratiqués, l'eau du dernier rinçage (appelé aussi **rinçage final**) est prélevé pour analyse physicochimique et microbiologique [25].

#### 1.5.1.3. Prélèvement par placebo

Cette méthode consiste à fabriquer un lot placebo (médicament sans principe actif) du même produit et de rechercher les traces de ce principe actif dans ce placebo. Le cout de revient de ce mode de prélèvement est assez élevé, de ce fait, il est rarement utilisé. Il permet de compléter une validation du nettoyage au cas d'un mauvais nettoyage [25].

Tableau XIII : Comparaison des différents types de prélèvements [25].

Type de prélèvement	Avantages	Inconvénients
<b>Prélèvement direct</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Conformité aux exigences de la FDA et recommandation des BPF Européennes.</li> <li>- Meilleure connaissance de la répartition dans l'équipement (cartographie de la contamination)</li> <li>- Possibilité de modélisation au laboratoire du taux de récupération.</li> <li>- Taux de récupération très élevé du fait des actions mécanique et chimique.</li> <li>- Concentration plus importante de l'échantillon permettant une détection analytique plus facile que dans les eaux de rinçage.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Validation de méthode analytique plus lourde.</li> <li>- Problème de représentativité du plan d'échantillonnage.</li> <li>- Difficulté de réalisation sur le terrain (accessibilité, reproductibilité)</li> </ul>
<b>Prélèvement indirect « rinçage final »</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Représentatif de l'ensemble des surfaces à évaluer</li> <li>- Prélèvement des surfaces inaccessibles.</li> <li>- Bon complément du prélèvement direct pour pouvoir une représentation globale.</li> <li>- Automatisation (NEP), ce qui permet une meilleure reproductibilité.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ce qui reste sur l'équipement est inconnu.</li> <li>- Dilution important du contaminant se qui laisse sa détection difficile.</li> <li>- Insuffisant seul pour la FDA</li> <li>- Connaitre le volume exact du fluide de rinçage.</li> </ul>
<b>Prélèvement par placebo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pas de nouveau développement analytique, la méthode étant déjà connue.</li> <li>- Intérêt pour les contaminations hétérogènes des équipements (exemple : formes sèches)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Coût très élevé.</li> <li>- Non accepté seul pour les technologies classiques.</li> <li>- Risque important de la dilution de la contamination dans le placebo.</li> </ul>

### 1.5.2. Prélèvements en vue de l'analyse microbiologique

Les mêmes méthodes pour les prélèvements physicochimiques sont rencontrées pour les prélèvements microbiologiques avec une **précaution de veiller aux conditions de stérilité** au moment de **prélèvement** et de **transport** de ces prélèvements. Les avantages et les inconvénients sont identiques. Parmi les prélèvements en vue d'une analyse microbiologique, on distingue [24] ;

- Prélèvement direct par écouvillonnage : Intéressant pour des zones à accès difficile tels que les coins, les racleurs et les joints.
- Prélèvement par boîte de contact.
- Prélèvement indirect par les eaux de rinçage.

1.6. Mise au point de la méthodologie de prélèvement et de la méthode analytique

Les méthodes de prélèvement et les méthodes analytiques dans le cadre de la validation du nettoyage doivent être mises au point conjointement afin de concilier l'ensemble des facteurs influençant la fiabilité des résultats.

Les conditions à observer dans le cadre de la validation du nettoyage sont ;

- La limite de quantification de la méthode analytique (LOQ) doit être **suffisamment basse** pour quantifier les traces de contaminant au dessous de la limite d'acceptation. En d'autres termes la LOQ doit être inférieur à la limite d'acceptation (exprimée en unité de concentration).
- Le rendement de prélèvement doit être **suffisamment élevé** pour s'assurer du déplacement total du contaminant de la surface de l'équipement vers les solutions à analyser. Selon la FDA, ce rendement doit être au minimum de 50% et selon la SFSTP doit être supérieur ou égal à 70% [25].

Le logigramme de la figure 12 résume les étapes de la mise au point des méthodologies de prélèvement et d'analyse.

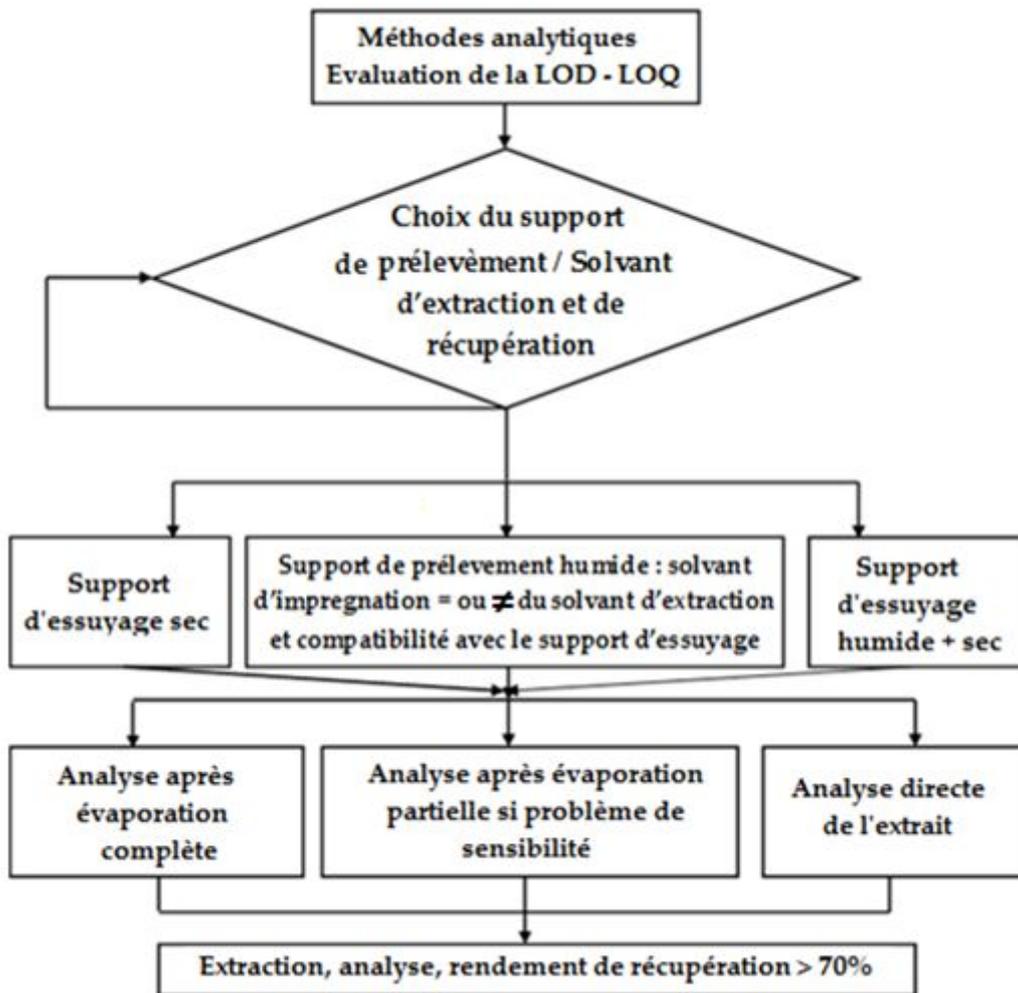


Figure 12 : Etapes de mise au point de la méthodologie de prélèvement par écouvillonnage [25].

**1.6.1. Détermination des rendements d'extraction et de récupération**

L'étape de prélèvement est d'une importance cruciale dans la validation du nettoyage, les quantités résiduelles des contaminants recherchés doivent être effectivement quantifiées par la méthode analytique. La teneur en traceur dans les solutions finales analysées tient compte de deux opérations ;

- La première opération est la « **récupération** du principe actif de la surface de **l'équipement vers l'écouvillon** utilisé pour le prélèvement ». Si la quantité résiduelle du traceur par unité de surface à prélever est notée  $Q_0$ , la quantité récupérée par l'écouvillon est notée  $Q_1$ , on définit un **rendement de récupération** noté  $\rho_1$  et calculé comme suit ;

$$\rho_1 = \frac{Q_1}{Q_0} \times 100$$

- La seconde opération est le transfert du principe actif **de l'écouvillon vers la solution à analyser**, on parle de **l'extraction** du traceur. Si la quantité extraite est notée  $Q_2$ , on définit un **rendement d'extraction** noté  $\rho_2$  et calculé selon la formule ci-dessous ;

$$\rho_2 = \frac{Q_2}{Q_1} \times 100$$

Pour tenir compte des deux opérations, on définit un rendement total appelé le **taux de recouvrement** qui est le produit des deux rendements précédents.

Le taux de recouvrement représente la fraction de la quantité résiduelle effectivement quantifiée par la méthode analytique.

**Taux de recouvrement = Rendement de récupération × Rendement d'extraction**

$$\text{Taux de recouvrement} = \rho_1 \times \rho_2 = \frac{Q_2}{Q_0} \times 100$$

Au laboratoire de contrôle qualité, ces rendements peuvent être déterminés par simulation de la contamination d'un matériau ayant le même design que les équipements de production (inox de qualité pharmaceutique). Une surface définie de ce matériau est contaminée par une quantité connue du traceur, puis prélevée selon la méthode décrite.

D'autre part, la même quantité est mise en contact avec l'écouvillon afin de déduire le rendement d'extraction.

Il est recommandé de réaliser l'expérience sur une gamme renfermant au minimum 3 niveaux de concentration régulièrement espacées et positionnées au tour de la limite d'acceptation résiduelle. Chaque niveau de concentration est répété au minimum trois fois.

A partir des résultats obtenus, ils sont calculés : les rendements d'extraction et de recouvrement, le coefficient de variation (CV) intra niveau, inter niveau et total.

Selon le rapport d'une commission de la SFSTP [25].

- Le rendement moyen des recouvrements doit être au minimum de 70%
- Si le CV total est inférieur à 10%, le taux de recouvrement est la moyenne des rendements obtenus par niveau de concentration.
- Si le CV total est supérieur à 10%, le taux de recouvrement est celui le plus faible de la série.

Tableau XIV : Calcul du rendement d'extraction et du taux de recouvrement par écouvillonnage [25].

Validation de la méthode de prélèvement / contamination des écouvillons			Validation de la méthode de prélèvement / contamination des plaques		
Niveaux de concentration en %	Rendement d'extraction en %		Niveaux de concentration en %	taux de recouvrement en %	
	Rendements obtenus			Rendements obtenus	
<u>Niveau 1</u>	Essai 1		Niveau 1	Essai 1	
	Essai 2			Essai 2	
	Essai 3			Essai 3	
<b>Moyenne</b>			<b>Moyenne</b>		
Ecart type			Ecart type		
% RSD			% RSD		
<u>Niveau 2</u>	Essai 1		Niveau 2	Essai 1	
	Essai 2			Essai 2	
	Essai 3			Essai 3	
<b>Moyenne</b>			<b>Moyenne</b>		
Ecart type			Ecart type		
% RSD			% RSD		
<u>Niveau N</u>	Essai 1		Niveau N	Essai 1	
	Essai 2			Essai 2	
	Essai 3			Essai 3	
<b>Moyenne</b>			<b>Moyenne</b>		
<b>Ecart type</b>			<b>Ecart type</b>		
% RSD			% RSD		
<b>Moyenne des N essais</b>			<b>Moyenne des N essais</b>		

% RSD : (Relatif Standard Deviation) ou écart type relatif exprimé en %.

### 1.6.2. Validation analytique de la méthode du dosage des traces de contaminants

Les méthodes d'analyse utilisées doivent faire l'objet de validation en amont de la validation du nettoyage.

En validation du nettoyage, les quantités de contaminants recherchés sont à l'état de traces, les méthodes d'analyse doivent être en conséquence adaptées aux niveaux très faibles des concentrations.

Les paramètres de validation à considérer sont au minimum les suivants :

- Spécificité
- Linéarité
- Exactitude
- Fidélité : répétabilité et fidélité intermédiaire
- Limite de détection
- Limite de quantification

La méthodologie de validation analytique est développée dans chapitre IV.

### 1.7. Reproductibilité des procédés de nettoyage

La validation du nettoyage des équipements de fabrication doit être démontrée au minimum à trois reprises après fabrication et nettoyage du produit pire cas. Tous les résultats d'analyses (physicochimiques et microbiologiques) doivent être conformes aux critères d'acceptation préalablement établis.

Un plan d'échantillonnage définissant le nombre et les points de prélèvement, couvrant l'ensemble des équipements doit être établie conjointement entre la structure chargée du nettoyage et celle chargée du contrôle qualité [2].

### 1.8. Validation du temps écoulé entre la fabrication et le nettoyage (Durée maximale de l'état sale de l'équipement)

Cette durée est aussi appelée DEHT (Dirty Equipment Hold Time), elle doit être définie et validée.

En effet, plus la durée de l'état de saleté est longue, plus les salissures s'adhèrent aux surfaces, d'une part le nettoyage devient plus difficile et d'autre part ces salissures peuvent subir des réactions de dégradation et générer des composés qui peuvent être néfastes pour la santé humaine. En outre ces, équipements non nettoyés constituent un milieu de culture pour les microorganismes.

Il est recommandé de nettoyer les équipements à la fin de production d'une campagne du même médicament [2].

### 1.9. Validation du temps écoulé entre le nettoyage et l'utilisation de l'équipement (Durée maximale de l'état propre de l'équipement).

Il s'agit du CEHT ou Cleaned Equipment Hold Time, c'est-à-dire le temps écoulé entre le nettoyage et la réutilisation de l'équipement. Ce temps correspond au temps du maintien de l'équipement en l'état propre.

Pendant cette période, Il faut vérifier l'absence de dépôt de poussière ainsi que l'absence de contamination microbiologique de l'équipement [2].

### 1.10. Revalidation et maîtrise des changements

Un procédé de nettoyage valide fait objet de modifications continues en fonction de l'évolution de l'activité de production de l'entreprise. La revalidation du nettoyage est envisageable dans les situations suivantes [2] ;

- Modifications de la gamme de production.
- Modifications concernant les équipements.
- Modifications concernant les procédures de nettoyage.
- Revalidation périodique.

### 2. Validation du nettoyage des équipements de fabrication pharmaceutique : Nouvelle approche basée sur le risque santé et la détermination de l'Exposition Journalière Admissible – PDE (Permitted Daily Exposure)

Le 20 Novembre 2014, l'agence Européenne des Médicaments (EMA : European Medicines Agency) a publié une ligne directrice intitulée « Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities » ou bien « Ligne directrice pour l'établissement et la définition des limites d'exposition à utiliser pour l'identification des risques sanitaires dans la fabrication de différents médicaments dans des installations communes».

L'approche PDE décrite dans cette ligne directrice est un nouveau paradigme qui est en train de révolutionner la pratique actuelle de la validation du nettoyage et remodèle celle de l'avenir, cette ligne directrice **place la sécurité du patient** au centre de l'approche PDE en intégrant l'ensemble des données pharmacologiques et toxicologiques issues des différentes phases des études précliniques et cliniques de développement du médicament.

Cette nouvelle approche, repose sur l'évaluation du danger d'une substance contaminant et fait référence aux données toxicologiques issues des études de toxicité à doses répétées (subaiguë et chronique), de génotoxicité, de reprotoxicité et de carcinogénocité. Il tient compte aussi du pouvoir allergisant de la substance.

#### 2.1. Exigences des PBF et approche PDE

Dans sa récente version, le guide des bonnes pratiques de fabrication européennes a révisé les chapitres 3 et 5 relatifs aux locaux – matériel et à la production ainsi que l'annexe 15 traitant la qualification et la validation [2].

En matière de validation du nettoyage, l'approche pire cas est décrite dans l'annexe 15 suscitée pour les étapes du choix du traceur et de l'établissement des limites d'acceptation. Les paragraphes 10.6 et 10.10 stipulent ce qui suit ;

« 10.6 : **Les limites de contamination résiduelle du produit doivent reposer sur une évaluation toxicologique**<sup>1</sup>. La justification des limites sélectionnées doit être documentée dans le cadre d'une évaluation du risque incluant toutes les données support.» [2].

« 10.10 : En cas d'utilisation d'une approche par le **pire cas** comme modèle de validation du nettoyage, une **justification scientifique** doit être fournie pour la sélection du pire cas, et l'incidence des nouveaux produits sur le site doit être évaluée. Les critères pour définir le pire cas doivent inclure la **solubilité**, la **nettoyabilité**, la **toxicité** et l'**activité thérapeutique** » [2].

<sup>1</sup> : Voir la ligne directrice de l'EMA sur la définition des limites d'exposition à utiliser pour l'identification des risques sanitaires dans la fabrication de différents médicaments dans des installations communes.

### 2.2. Définition de la PDE

Selon la ligne directrice de l'EMA : « La PDE représente une dose spécifique à la substance qui est **peu susceptible de provoquer un effet néfaste** si un individu est exposé à cette dose ou en dessous de cette dose tous les jours pendant toute une durée de vie » [36].

### 2.3. Justification du recours à l'usage de la PDE en validation du nettoyage

Les entreprises pharmaceutiques sont tenues d'établir des limites d'exposition basées sur l'évaluation du risque sur la santé humaine pour toute substance **contaminant** considérée comme étant "**hautement dangereuse**"[37].

Les substances hautement dangereuses sont celles qui peuvent causer des effets néfastes à des faibles doses pour un être humain et qui, par conséquent, **bénéficieraient d'une évaluation toxicologique complète** durant les études de sécurité cliniques et précliniques.

Les substances hautement dangereuses sont identifiées en fonction de leurs caractéristiques toxicologiques et pharmacologiques inhérentes et comprennent les groupes ci-dessous [37] ;

- **Composés génotoxiques** (spécifiquement mutagènes) connus pour être, ou hautement susceptibles d'être, cancérogènes pour l'Homme.
- Composés susceptibles de produire des **effets sur la reproduction** et / ou le développement à faible dose, par exemple lorsqu'il existe des preuves que ces effets sont provoqués par une dose clinique < 10 mg / jour ou études animales de < 1 mg/kg/jour.
- Composés pouvant entraîner une **toxicité grave** pour les organes cibles ou d'autres effets nocifs significatifs à faibles doses, par exemple lorsqu'il existe des preuves que de tels effets sont provoqués par une dose clinique < 10 mg / jour ou des dosages dans des études animales de < 1 mg/kg/jour.
- Composés ayant une **activité pharmacologique élevée**, c'est-à-dire une dose journalière recommandée de < 1 mg.
- Composés à **fort potentiel sensibilisant** ou allergisant.

**Note :** Cette liste n'est pas exhaustive et si des preuves indiquent que le produit peut causer des effets nocifs à de faibles doses par d'autres mécanismes, cela doit être considéré comme très dangereux

### 2.4. Détermination de l'Exposition Journalière Admissible (PDE)

La détermination de la valeur de PDE d'une substance pharmaceutique qui peut être recherchée au cours de la validation du nettoyage implique les étapes suivantes [36] ;

- Identification des dangers liés à l'utilisation de la substance en tenant compte de toutes les données disponibles.
- Identification des effets critiques.

- Détermination des valeurs toxicologiques avec ou sans effets néfastes, établies durant les études de sécurité précliniques.
- Utilisation des facteurs d’ajustement qui considèrent l’extrapolation des données obtenues chez les animaux vers les données estimées chez l’être humain en tenant compte de toutes les incertitudes.

### 2.4.1. Identification des dangers liés à l’utilisation de la substance

Afin d’identifier les dangers liés à l’utilisation d’une substance pharmaceutique, l’ensemble des données disponibles durant les essais précliniques et cliniques doivent être examinées et exploitées. Ces données comprennent les ;

- Données pharmacodynamiques chez des modèles animaux qui élucident les mécanismes d’action de la molécule.
- Données des études de toxicité ;
  - Aigue (DL 50).
  - A doses répétées (NOEL, NOAEL, LOAEL).
  - Sur la reproduction (reprotoxicité) et le développement foetal (foetotoxicité).
  - Sur le génôme (génotoxicité) in vivo et in vitro.
- Données des études de carcinogenocité.
- Données sur le pouvoir sensibilisant (allergisant) de la substance.

Un tableau sommaire identifiant le danger de chaque substance est établi, si l’un des paramètres de jugement est présent, la substance est considérée comme étant dangereuse et le calcul de la PDE est obligatoire.

**Tableau XV : Classification d’une substance pharmaceutique selon sa dangerosité [36].**

Effets	Oui	Non	Inconnu	Dangerosité de la substance (oui / non)
Génotoxique				
Reprotoxique / foetotoxique				
Carcinogène				
Pouvoir sensibilisant				

### 2.4.2. Identification des effets critiques

Toutes les observations et les données obtenues au cours des essais précliniques et cliniques doivent être exploitées afin de définir les effets néfastes d’une substance médicamenteuse.

Au cours des essais précliniques un ensemble d’observations et d’examen doit être évalué pour les animaux soumis aux différentes études [36], à savoir ;

- Consommation des aliments et suivi du poids corporel.
- Modifications du comportement et de la morphologie de l’animal.
- Examens cliniques des différents systèmes et organes (reins, foie, estomac, système nerveux, système cardiovasculaire, organes génitaux ... etc.)

- Suivi des paramètres hématologiques et biochimiques.

A la fin de chaque étude, les animaux sont sacrifiés et des examens histologiques et anatomopathologiques complets sont effectués et ce, afin d'identifier la toxicité des organes si elle a lieu et de quantifier les effets néfastes observés [36, 37].

### 2.4.3. Détermination des valeurs toxicologiques (NOEL, NOAEL et LOAEL)

Ces valeurs toxicologiques sont déterminées à l'issue des divers essais de toxicité, effectués sur des espèces animales plus sensibles et plus pertinentes. Certains tests examinent des types spécifiques et d'autres sont de nature plus générale, allant d'une étude à une exposition unique (toxicité aiguë) à des expositions répétées (toxicité à doses répétées) dans lesquelles les animaux de laboratoire reçoivent des doses quotidiennes de la substance soit pendant 1 mois (subaiguë), 3 mois (subchronique) et / ou 2 ans (chronique) [38].

- **NOEL** : Correspond au niveau d'exposition le plus élevé auquel il n'y a pas d'effets (nocifs ou non) observés. La population exposée est comparée à son contrôle approprié.
- **NOAEL** : Correspond au niveau d'exposition le plus élevé auquel il n'y a pas d'augmentation statistiquement ou biologiquement significative de la fréquence ou de la gravité des effets indésirables entre la population exposée et son contrôle approprié. Certains effets peuvent être produits à ce niveau, mais ils ne sont pas considérés comme indésirables ou précurseurs aux effets indésirables.
- **LOAEL** : Correspond au niveau d'exposition le plus bas auquel il y a des augmentations statistiquement ou biologiquement significatives de la fréquence ou de la gravité des effets indésirables entre la population exposée et son contrôle approprié.

La figure 13 illustre sur la courbe dose-réponse les valeurs de la NOEL, NOAEL et LOAEL.

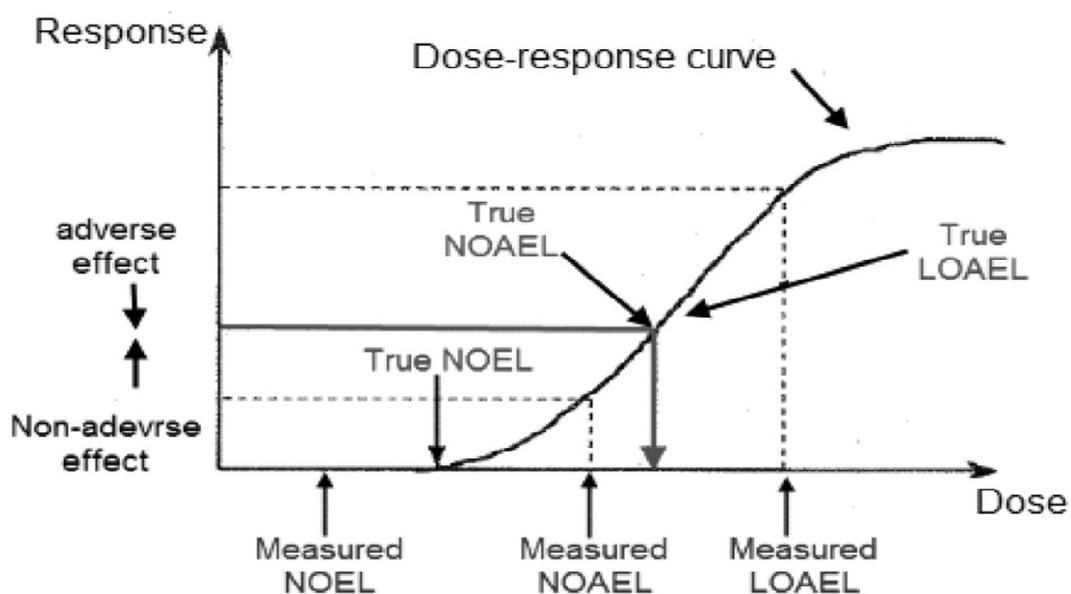


Figure 13 : Courbe dose – réponse et détermination des valeurs de NOEL, NOAEL et LOAEL [38].

#### 2.4.4. Utilisation des facteurs d'ajustement

Ces facteurs d'ajustement tiennent compte de l'extrapolation des données obtenues à partir de l'expérimentation animale vers des données estimées chez l'être humain [39].

##### Formule de calcul de la PDE

$$PDE = \frac{VTR \times B_W}{F_1 \times F_2 \times F_3 \times F_4 \times F_5}$$

- **VTR : Valeur Toxicologique de Référence, elle peut être ;**
  - NOEL : No Observed Effect Level (Dose sans effet observable) ou ;
  - NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (Dose sans effets néfastes observables) ou ;
  - LAOEL : Lowest Observed Adverse Effect Level (Dose minimale donnant un effet néfaste observable).

**Sources des VTR :** Etudes de toxicité à doses répétées (**repeated doses toxicité**) ; toxicités subaiguë, chronique et reprotoxicité.

- **Bw : Body weight :** Poids corporel (50 Kg pour un adulte). Pour les médicaments à usage pédiatrique des valeurs inférieures peuvent être utilisées (poids moyen d'un enfant ou d'un nourrisson).

**Pour les valeurs des facteurs F1, F2, F3, F4 et F5, la ligne directrice de l'EMA fait référence au document de l'ICH relatif aux solvants résiduels [39].**

- **F1 : Facteur tenant compte de l'extrapolation des données entre espèces différentes.**

F1 = 5 pour l'extrapolation des données sur le **rat** aux humains.

F1 = 12 pour l'extrapolation des données sur la **souris** aux humains.

F1 = 2 pour l'extrapolation des données sur le **chien** aux humains.

F1 = 2,5 pour l'extrapolation des données sur le **lapin** aux humains.

F1 = 3 pour l'extrapolation des données sur le **singe** aux humains.

F1 = 10 pour l'extrapolation des données sur **d'autres espèces** animales aux humains.

- **F2 = Facteur de 10 pour tenir compte de la variabilité entre les individus.**

Un facteur de 10 est conventionnellement utilisé pour tenir compte de la différence entre les individus dans la population humaine.

- **F3 = Facteur variable pour tenir compte des études de toxicité avec exposition à court terme.**

F3 = 1 pour les études qui durent au moins une demi-vie (1 an pour les rongeurs ou les lapins; 7 ans pour les chats, les chiens et les singes).

F3 = 1 pour les études de reproduction s'étendant sur toute la période d'organogénèse.

F3 = 2 pour les études de 6 mois chez des rongeurs, ou les études de 3,5 ans chez d'autres espèces animales.

F3 = 5 pour les études de 3 mois chez des rongeurs, ou les études de 2 ans chez d'autres espèces animales.

F3 = 10 pour les études de plus courte durée.

- **F4 = Facteur à appliquer dans les cas de toxicité élevée, par exemple, cancérogénicité, neurotoxicité ou tératogénicité non génotoxique.**
  - **Dans les études de toxicité sur la reproduction, les facteurs suivants sont utilisés ;**
    - F4 = 1 pour une toxicité fœtale associée à une toxicité maternelle.
    - F4 = 5 pour une toxicité fœtale non associée à une toxicité maternelle.
    - F4 = 5 pour un effet tératogène avec toxicité maternelle.
    - F4 = 10 pour un effet tératogène sans toxicité maternelle.
  - **Dans les autres études de toxicité, les valeurs du facteur F4 peuvent être estimées en fonction de la toxicité observée comme suit [40].**
    - F4 = 1 pour les Effets toxiques doux :
      - ✓ Effets pharmacodynamiques primaires et secondaires
      - ✓ Diarrhées causées par les antibiotiques
      - ✓ Augmentation du poids des organes sans pathologie tissulaire corrélée
      - ✓ Effets de stress (Involution du thymus)
    - F4 = 5 pour des Effets toxiques non létaux :
      - ✓ Inhibitions du cycle cellulaire
      - ✓ Hypertrophies
      - ✓ Myelotoxicité
      - ✓ Hypertension
      - ✓ Effets inotropiques
    - F4 = 10 pour des Effets potentiellement létaux
      - ✓ Lésions dégénératives et nécrotiques des organes
      - ✓ Tumeurs
      - ✓ Arrêt de fonctionnement d'un organe
- **F5 : Facteur tenant compte de la nature de la valeur toxicologique utilisée [40].**
  - F5 = 1 : Si NOEL est utilisée.
  - F5 = 3 : Si NOAEL est utilisée.
  - F5 = 10 : Si LOAEL est utilisé.

### 2.4.5. Extrapolation aux autres voies d'administration

La voie d'administration conditionne la biodisponibilité d'un médicament et par conséquent, l'importance de l'exposition à une contamination résiduelle. La PDE d'une substance doit donc tenir compte de sa voie d'administration.

Lorsque le changement de voie d'administration entraîne une différence de biodisponibilité importante (supérieure à 40%), un facteur d'ajustement doit être appliqué [36].

- Lorsque le changement de la voie d'administration entraînera une diminution de l'exposition systémique et que les données de biodisponibilité de la nouvelle voie ne sont pas disponibles, il n'est pas nécessaire d'appliquer un facteur de correction pour le calcul

de la PDE, car la valeur de PDE obtenue avec la première voie est plus stricte de celle obtenue avec la seconde voie [29].

- Lorsque le changement de la voie d’administration entraînera une augmentation de l’exposition systémique au contaminant et que les données de biodisponibilité ne sont pas disponibles pour d’autres voies, une extrapolation prudente sera faite en supposant que la biodisponibilité de la nouvelle voie est de 100% [29].

L’extrapolation d’une voie d’administration à l’autre est faite au **cas par cas**.

**Exemples [29].**

**Exemple 1 : Passage d’une voie d’administration orale à une voie cutanée.**

Cas où les données pour la biodisponibilité sont connues.

BD<sub>orale</sub> (biodisponibilité) : 50%

BD<sub>cutanée</sub> : 10%

$$\text{Facteur de correction} = \frac{BD \text{ orale}}{BD \text{ cutanée}} = \frac{50}{10} = 5$$

$$PDE_{\text{cutanée}} = PDE_{\text{orale}} \times \text{Facteur de correction} = PDE_{\text{orale}} \times 5$$

**Exemple 2 : Passage d’une voie d’administration orale à une voie par inhalation.**

Cas où les données pour la biodisponibilité par voie inhalée sont inconnues, cependant, il est attendu que la biodisponibilité par voie inhalée soit supérieure à celle par voie orale (la voie inhalée permet d’éviter l’effet de premier passage hépatique) [29].

BD<sub>orale</sub> (biodisponibilité) : 50%

BD<sub>inhalation</sub> : inconnue

$$\text{Facteur de correction} = \frac{BD \text{ orale}}{BD \text{ inhalée}} = \frac{50}{100} = 0,5$$

$$PDE_{\text{inhalée}} = PDE_{\text{orale}} \times \text{Facteur de correction} = PDE_{\text{orale}} \times 0,5$$

**Exemple 3 : Passage d’une voie d’administration IV (intraveineuse) à une autre voie.**

Dans ce cas, il est attendu que la biodisponibilité par voie IV soit supérieure à la biodisponibilité par l’autre voie. La PDE intraveineuse peut être utilisée toute en prenant une marge de sécurité que les valeurs des limites d’acceptation calculée soient plus faibles [29].

**2.4.6. Cas particuliers**

- Lorsqu’une substance n’est pas classée « potentiellement dangereuse », il est possible de calculer la valeur de la PDE à partir des valeurs limites d’exposition professionnelle “VLEP” (en anglais OEL qui signifie Occupational Exposure Limite) à l’aide de la formule suivante [37] ;

$$PDE (\mu\text{g}/\text{jour}) = 10 * OEL (\mu\text{g}/\text{m}^3)$$

La valeur limite d’exposition d’un composé chimique représente la concentration dans l’air que peut respirer une personne pendant un temps déterminé sans risque d’altération pour sa santé [41].

- Pour les substances dont le **pouvoir mutagène** est démontré durant les essais précliniques, la ligne directrice de l'EMA introduit la notion de Threshold of Toxicological Concern (TTC) ou bien le seuil de préoccupation toxicologique. La valeur de TTC pour ces substances est **1,5 µg/jour/personne** [36].

### 2.5. Stratégie des pires cas en validation du nettoyage basée sur l'utilisation de la PDE

Dans la nouvelle approche de la validation du nettoyage basée sur le risque santé, la PDE trouve sa place dans les deux premières étapes de la stratégie des pires cas à savoir ;

- Le choix du traceur physicochimique.
- La détermination des limites d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique.

Les autres étapes de la stratégie et la partie microbiologique restent inchangées dans cette nouvelle approche.

#### 2.5.1. Choix du traceur en analyse physicochimique basé sur la valeur de PDE

Dans cette nouvelle approche fondée sur l'utilisation de la PDE, le choix d'un produit pire cas repose sur les mêmes critères que ceux de l'approche traditionnelle à savoir, la solubilité, la nettoyabilité et la toxicité. L'échelle de toxicité est établie en fonction des **valeurs des PDE** au lieu de celles des DL 50, on parle aussi d'une échelle de **dangerosité**.

De façon analogue à l'approche traditionnelle, le choix d'un produit pire cas repose sur les données de solubilité, de nettoyabilité et de toxicité (dangerosité).

**Le traceur correspond au composant le plus dangereux (ayant la PDE la plus faible), le plus insoluble dans l'eau et le plus difficile à nettoyer.**

#### 2.5.2. Etablissement des limites d'acceptation basées sur la valeur de PDE

Une nouvelle limite basée sur les valeurs de PDE est établie pour une production industrielle, la méthodologie repose sur l'hypothèse que le contaminant le plus dangereux (PDE la plus faible) se trouve à des quantités égales à l'exposition journalière admissible dans un produit B pris par un patient à sa dose journalière maximale et ce, pendant toute la durée de sa vie.

### 2.6. Approche PDE et maîtrise des changements en validation du nettoyage

L'introduction de l'approche PDE en validation du nettoyage d'une ligne de fabrication multiproduits implique une étude d'impact sur le choix du traceur et l'établissement des limites d'acceptation en analyse physicochimique déterminés dans l'approche traditionnelle.

- **Impact sur le choix du traceur** : Si le traceur d'une gamme de production change avec l'approche PDE, un nettoyage d'une ligne déjà validé doit être revalidé et ce, quelque soit la nouvelle limite d'acceptation. Si le traceur reste le même, il faudra tenir compte de la nouvelle limite d'acceptation.

- **Impact sur la limite d'acceptation :** Lorsque le traceur ne change pas avec l'approche PDE, deux situations sont distinguées ;
  - **Augmentation de limite d'acceptation :** C'est la situation la plus rencontrée, la limite d'acceptation obtenue avec l'approche traditionnelle est plus stricte, le nettoyage de la ligne demeure valide et la revalidation du nettoyage n'est pas nécessaire. Il s'agit donc de documenter uniquement la nouvelle approche et l'inclure dans la stratégie de validation du nettoyage de l'entreprise.
  - **Diminution de la limite d'acceptation :** Dans ce cas, les résultats de la validation du nettoyage de la ligne de fabrication considérée seront réexaminés et confrontés à nouvelle limite d'acceptation.
    - ✓ Dans le cas où les résultats de la validation sont conformes à la nouvelle limite, la revalidation du nettoyage n'est pas nécessaire. Le protocole et le rapport de validation du nettoyage seront révisés afin de considérer l'approche PDE.
    - ✓ Dans le cas où un ou plusieurs résultats ne sont pas conformes à la nouvelle limite, la revalidation du nettoyage de la ligne de production **est obligatoire**.

Le logigramme de la figure 14 explique la démarche à suivre dans l'application de l'approche PDE pour un nettoyage déjà valide.

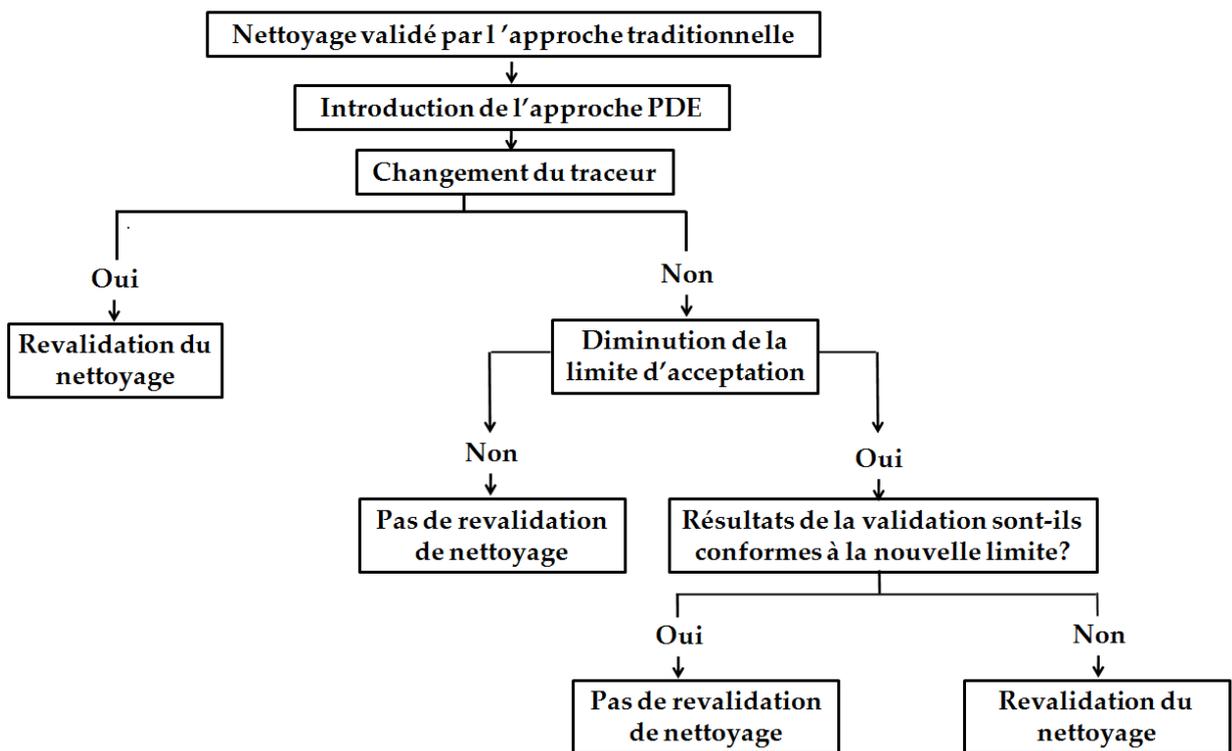


Figure 14 : Démarche à suivre dans l'application de l'approche PDE pour un nettoyage déjà valide

### 3. Cas particulier de la validation du nettoyage : Surfaces sans équipements – Validation du nettoyage d'une centrale de pesée

En matière de gestion de la contamination, la centrale de pesée d'une entreprise pharmaceutique est le premier siège de cette contamination du fait que toutes les matières premières (principes actifs et excipients) ainsi que les produits semi-finis (premix) sont pesés dans cet endroit. La validation du nettoyage d'une centrale de pesée est de même importance que celle des équipements de fabrication. Il s'agit d'une surface sans équipements proprement dit.

La démarche suivie pour la validation du nettoyage d'une centrale de pesée est similaire à celle observée pour les équipements de fabrication, la différence réside dans les étapes du choix des traceurs et dans l'établissement des limites d'acceptation.

**Méthodologie de la validation du nettoyage :** La validation du nettoyage d'une centrale de pesée repose sur les éléments suivants ;

- Choisir un traceur correspondant à la substance pire cas.
- Définir les teneurs limites de contaminants.
- Déterminer les taux de recouvrements des prélèvements par écouvillonnage.
- Valider la méthode analytique de dosage du traceur à l'état de traces.
- Valider la reproductibilité du procédé de nettoyage par sa mise en œuvre à trois reprises consécutives et donnant des résultats favorables.
- Valider la durée du nettoyage : Les intervalles entre le nettoyage et la réutilisation des balances doivent être validées.

#### 3.1. Choix du traceur physicochimique

Le traceur correspond à la matière première ayant la probabilité la plus élevée de laisser des résidus après nettoyage, on parle de substance **pire cas** « worst case ».

Le traceur ou la substance pire cas est le contaminant à rechercher au cours de la validation du nettoyage. Il peut être un principe actif, un excipient, un agent de nettoyage ou bien un produit de dégradation.

**Son identification est basée sur l'établissement des facteurs de sélection, chaque facteur est coté d'un coefficient. Le traceur correspond à la substance ayant obtenu le produit des coefficients (score) le plus élevé.**

- **Facteurs de sélection :** [6].

**3.1.1. Nature de la matière première (principe actif ou excipient) :** Une contamination croisée par un principe actif peut entraîner des effets néfastes pour la santé humaine, alors que les excipients sont pharmacologiquement inactifs, à l'exception des excipients à effets notoires qui peuvent entraîner certaines intolérances individuelles.

- 3.1.2. Etat physique de la matière première :** L'état physique d'une matière première (solide ou liquide) est directement lié à la difficulté de nettoyage des composantes de la centrale de pesée et à leur pulvérulence. Les matières à l'état solide sont généralement pulvérulentes et plus difficiles à nettoyer par rapport aux matières à l'état liquide.
- 3.1.3. Solubilité dans l'eau et dans l'alcool :** S'agissant d'une centrale de pesée, les seuls solvants qui peuvent être utilisés sont l'eau et l'alcool (l'eau pour nettoyage de certaines surfaces et l'alcool pour essuyage final des surfaces des balances), une matière a plus de chance d'être présente après nettoyage si elle est peu soluble ou insoluble dans l'un ou des deux solvants.
- 3.1.4. Nettoyabilité :** Il s'agit de la facilité ou de la difficulté à nettoyer les surfaces de la CDP. Ces données sont recueillies auprès d'un opérateur qualifié et ayant une expérience suffisante en matière de nettoyage des surfaces de la CDP.
- 3.1.5. Toxicité :** L'échelle de toxicité retenue est celle établie par Hodge et Sterner [31].
- 3.1.6. Volatilité et pulvérulence :** Une matière première volatile peu se propager dans le box de pesée et déposer sur des surfaces difficilement accessibles au nettoyage (angles, joints...). Ces surfaces constituent une source de contamination pour tout le box y compris les matières à peser. Au même titre que la nettoyabilité, les données de volatilité d'une MP sont recueillies auprès d'un opérateur qualifié.
- 3.1.7. Résultats :** Le produit P (score) des coefficients des critères de sélection le plus élevée correspond à la matière première pire cas.

**Score = Indice de la nature x indice de l'état physique x indice de solubilité x indice de Nettoyabilité x indice de toxicité x indice de volatilité.**

**Le pire cas correspond à la matière première ayant obtenue le score le plus élevé.**

Note :

- Les critères de nettoyabilité et de toxicité, sont d'une grande importance dans le choix d'un traceur, ils peuvent être pondérés (multipliés par un coefficient) afin de les distinguer des autres critères.
- En cas d'égalité de plusieurs valeurs de P (plus élevée), l'hierarchie des critères est fixée comme suit ;

Nettoyabilité > Toxicité > Solubilité > Nature > Etat physique > Volatilité

### 3.2. Choix du traceur microbiologique

Le choix du traceur microbiologique suit la même démarche que celle observée pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication.

### 3.3. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique

S'agissant des matières premières et non pas des produits finis, les limites d'acceptation ne peuvent pas être reposées sur des données pharmacologiques et thérapeutiques mais plutôt sur des données toxicologiques. La limite choisie est le MACO (Maximum Allowable Carry Over), calculée à partir de la NOEL de la substance [6].

**Pour le prélèvement par écouvillonnage ;**

$$MACO_{\mu g/cm^2} = \frac{NOEL \times F_S \times L_B \times 70 \times 1000}{T_B \times S}$$

Avec ;

F<sub>S</sub> : Facteur de sécurité (0,01 pour les formes topiques, 0,001 pour les formes parentérales et 0,0001 pour les collyres et les formes injectables.

T<sub>B</sub> : Dose thérapeutique (g/jour) la plus élevée des produits fabriqués dans l'entreprise.

L<sub>B</sub> : plus petite taille du lot fabriqué dans l'entreprise (exprimée en g).

S : surface totale des surfaces de contamination dans la centrale de pesée.

70 : poids corporel d'un individu moyen.

NOEL : No Observed Effet Level ou dose sans effet observé de la substance contaminant (NOEL = DL50 × 0,0005) et DL50 en mg/Kg.

### 3.4. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique

Pour la détermination des limites d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique, la même démarche que celle suivie pour l'approche traditionnelle de la validation du nettoyage des équipements peut être appliquée.

### 3.5. Plan de prélèvements

Une centrale de pesée est généralement organisée en plusieurs zones, les principales sont ;

- Zone d'accès au magasin où se trouvent les matières premières à peser pour la fabrication d'un nombre de lots précis pour une journée.
- Le(s) box de pesée(s) : Chaque box contient une ou plusieurs balances :
- La zone de stockage intermédiaire : où sont regroupées les matières pesées dans des sacs alimentaires étiquetés.

Généralement, seul le prélèvement par écouvillonnage est recommandé,

Le choix des points de prélèvement pour l'analyse physicochimique et microbiologique est porté sur les surfaces suivantes ;

- Plateaux des balances.
- Tables ou paillasse sur lesquelles sont déposées les balances.
- Murs proches des balances.
- Parois internes des hottes abritant les balances.
- Plafond proche du point d'aération.
- Les points d'aération.

# **CHAPITRE IV**

**VALIDATION DES PROCEDURES**

**ANALYTIQUES**

La validation des méthodes analytiques est une composante essentielle qu'un laboratoire doit mettre en œuvre pour lui permettre de fournir des données analytiques fiables.

En industrie pharmaceutique, la validation des méthodes d'analyse figure parmi les mesures universellement reconnues comme faisant partie d'un système exhaustif d'assurance qualité.

### 1. Contexte réglementaire de la validation analytique

Historiquement, le concept de la validation des méthodes analytiques en industrie pharmaceutique est le résultat de deux démarches quasi concomitantes entreprises à l'origine aux Etats-Unis d'Amérique. D'une part, par les fabricants des médicaments et les représentants de l'USP et d'autre part, par les autorités d'enregistrement.

Ces travaux initiés en 1985, sont concrétisés par un texte inclus à l'USP XXI et repris par l'USP XXII pour application officielle en 1990.

En Europe, à partir de 1987 une démarche similaire a été entreprise et a permis l'élaboration d'une note explicative référencée CEE III/844/87-FR.

Par la suite, de nombreux textes réglementaires à portées régionales et internationales ont été édictés et constituent des **références légales** ;

- **Aux Etats Unis d'Amérique (USA)**

- **Chapitre 1225** publié dans l'USP depuis la XXI<sup>ème</sup> édition (1989) intitulé « Validation of compendial methods »
- Documents publiés par le CDER (Centre for Drug Evaluation and Research) ;
  - Centre for Drug Evaluation and Research (CDER) - Validation of chromatographic methods [42].
  - CDER. Draft- analytical procedure and - method validation [43].
  - FDA. CDER-CBER. Guidance for Industry Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics [44].

- **En Europe**

Au niveau européen, un groupe de travail du comité des spécialités pharmaceutiques et de qualité du médicament de la commission des communautés européennes a publié une note explicative relative à la validation analytique et référencée : CEE (III-844-87/ 1989) [45].

- **Au niveau international**

- Un comité d'experts de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a publié en 1992 un document intitulé « Validation of analytical procedures used in the examination for pharmaceutical materials » [46].
- La conférence internationale d'harmonisation (ICH) a publié de nombreux textes dont trois (03) concernent la validation des procédures analytiques, à savoir ;
  - ICH Q2A : Text on Validation of Analytical Procedures "Definitions and Terminology " [47].

- ICH Q2B : Text on Validation of Analytical Procedures "Methodology" [48].
- ICH Q2(R1) : validation of analytical procedures "text and methodology" [49].

Dans le but d'aider les industriels pharmaceutiques à valider leurs procédures analytiques, des groupes d'experts de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) ont engagé des réflexions qui se sont concrétisées par la publication de plusieurs guides techniques de validation, suivis par des exemples d'application. Ces guides constituent des véritables supports, permettant à toute analyse une démarche pratique sur les méthodes statistiques applicables à la validation. Dans l'ordre chronologique de leur parution, ces guides sont listés ci-dessous ;

- Guide de validation analytique-Rapport d'une commission SFSTP ;  
Partie I : Méthodologie [50].  
Partie II : Exemples d'application [51].
- Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques : stratégie de validation [52].
- Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques : Exemple d'application de la stratégie de validation [53].
- Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches [54].
- Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches.  
Partie II : Statistiques [55].
- Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches.  
Partie III : Exemples d'application [56].

Cette approche harmonisée basée sur le profil d'exactitude et le calcul de l'erreur totale, est celle qui est actuellement la plus recommandée pour la validation des méthodes d'analyse quantitative en industrie pharmaceutique.

## 2. Définition et objectifs de la validation

### 2.1. Définition

Selon la norme NF en ISO / CEI 17025, la validation analytique correspond à la «confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies» [57].

Le laboratoire d'analyse doit valider :

- Toute méthode qu'il conçoit et / ou qu'il développe.
- Toute méthode normalisée, modifiée ou employée en dehors de son domaine d'application prévu.

### 2.2. Objectifs de la validation analytique

Selon la ligne directrice ICH Q2(R1) « L'objectif de la validation d'une procédure analytique est de démontrer qu'elle est appropriée à l'usage auquel elle est destinée » [49].

Une méthode d'analyse a pour but la **quantification** le plus **exactement possible** de chacune des quantités inconnues dans un échantillon que le laboratoire aura à déterminer. C'est-à-dire que l'**écart** du résultat d'analyse et de la valeur vraie inconnue soit **inférieur** à une **limite d'acceptation** préétablie.

La validation permet donc de garantir que chaque mesure fournie par la procédure analytique et qui doit être réalisée en routine est comprise dans une limite d'acceptation appropriée.

### 3. Critères de validation analytique

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

De façon exhaustive, ces critères sont listés ci-dessous [50-54] ;

- Spécificité-Sélectivité.
- Fonction de réponse (courbe d'étalonnage).
- Linéarité.
- Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire).
- Justesse ;
- Exactitude et profil d'exactitude.
- Limite de détection (LD) et Limite de quantification (LQ).
- Intervalle de dosage.
- Sensibilité.
- Robustesse.
- Stabilité des solutions.

#### 3.1. Définitions des critères de validation

Les définitions retenues dans ce manuscrit sont celles décrites dans le guide de validation de la SFSTP (démarche harmonisée). Le tableau XVI reprend les définitions des critères de validation analytique ;

**Tableau XVI : Définitions des critères de validation analytique [54].**

Critères	Définitions [54]
<b>Spécificité/ Sélectivité</b>	« La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants potentiellement présents » Très souvent la spécificité/sélectivité se fonde sur une absence d'interférences. Elle peut être démontrée par différents moyens. C'est ainsi qu'elle peut être inhérente à la technique (par exemple : identification par spectrométrie infrarouge ou spectrométrie de masse), elle peut être obtenue par séparation préalable (par exemple : chromatographie)

## CHAPITRE IV : VALIDATION DES PROCEDURES ANALYTIQUES

<b>Fonction de réponse</b>	« La fonction de réponse d'une procédure d'analyse traduit, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existant entre la réponse (signal) et la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon. La fonction de réponse monotone la plus simple qui exprime cette relation est appelée courbe d'étalonnage »	
<b>Linéarité</b>	« La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité (exemple : concentration) en analyte dans l'échantillon ».	
<b>Justesse (biais)</b>	« La justesse exprime l'écart entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée ».	
<b>Fidélité</b>	Répétabilité	« Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps »
	Fidélité intermédiaire	« Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné ».
	Reproductibilité	« Conditions où les résultats d'essai sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents ».
<b>Exactitude</b>	« L'exactitude exprime l'écart entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée, aussi appelée « valeur conventionnellement vraie ». L'écart de l'accord ainsi observée est la résultante de la somme des erreurs systématique et aléatoire, en d'autres termes l'erreur totale liée au résultat. Par conséquent, l'exactitude est l'expression de la somme de la justesse et de la fidélité.	
<b>Limite de détection</b>	« La limite de détection d'une procédure d'analyse est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimentales décrites de la procédure ».	
<b>Limite de quantification</b>	« La limite de quantification est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une exactitude définie »	
<b>Intervalle de dosage</b>	« L'intervalle de dosage d'une procédure d'analyse est la région entre les niveaux supérieur et inférieur (ces valeurs incluses) pour laquelle il a été démontré que la procédure est appropriée quant à son exactitude (justesse + fidélité) et sa linéarité, en utilisant la méthode décrite ».	
<b>Sensibilité</b>	« La sensibilité d'une procédure d'analyse peut être définie comme étant le rapport de la variation de la réponse de la méthode d'analyse à la variation de la quantité d'analyte ».	

### 3.2. Choix des critères de validation

Les caractéristiques à valider sont étroitement liées à la nature de la méthode analytique, le tableau XVII donne les critères à valider pour chaque type de méthode. Il est à noter que les critères listés dans ce tableau sont au minimum requis pour une caractérisation complète de la méthode. Toutefois, selon les référentiels applicables au domaine concerné, d'autres caractéristiques pourront être exigées (exemple : robustesse).

**Tableau XVII : Caractéristiques à valider en fonction de la procédure analytique [49]**

Type d'analyse Caractéristique	Identification	Impuretés		Dosage – Dissolution (mesure seulement) – Teneur/activité
		Quantitat.	Teneur limite	
Exactitude	-	+	-	+
Précision	-	+	-	+
- Répétabilité	-			
- Précis Interméd	-	+ (1)	-	+(1)
Spécificité (2)	+	+	+	+
Limite de détection	-	- (3)	+	-
Limite de dosage	-	+	-	-
Linéarité	-	+	-	+
Ecart d'utilisation	-	+	-	+

- : Caractéristique qui n'est normalement pas évaluée

+ : Caractéristique normalement évaluée

(1) Si la reproductibilité est évaluée, il n'est pas nécessaire de déterminer la précision intermédiaire.

(2) Si la méthode est insuffisamment spécifique, cette déficience peut être compensée par la spécificité d'une ou de plusieurs autres épreuves complémentaires auxquelles l'échantillon est soumis.

(3) Parfois nécessaire.

### 3.3. Protocoles de validation

La démarche de validation harmonisée décrite dans le guide de la SFSTP [54-56] propose plusieurs protocoles en fonction de la connaissance préalable de la méthode à valider (absence ou présence d'un effet matrice).

Après avoir vérifié la spécificité de la méthode analytique, deux gammes de solutions sont préparées ;

- **Standards d'étalonnage (SE) :** Solutions de concentrations connues, préparées à partir de la substance à doser dans un milieu renfermant ou pas la matrice et ce, en fonction de l'absence ou de la présence de cet effet matrice. Ces solutions **servent à tester les différentes fonctions de réponse** : Signal de l'équipement en fonction de la concentration (quantité) de la substance.

## CHAPITRE IV : VALIDATION DES PROCEDURES ANALYTIQUES

- **Standards de validation (SV)** : Solutions de concentrations connues, préparées obligatoirement avec la matrice. Elles ont pour but la détermination de l'erreur totale de chaque niveau de concentration, le calcul de l'intervalle de tolérance et l'établissement le profil d'exactitude avec la détermination des limites inférieure et supérieure de quantification (intervalle de dosage).

En ce qui concerne les préparations des SE et SV (niveaux de concentrations, nombres de séries et de répétitions), celles-ci dépendent du protocole de validation retenu. Le logigramme de la figure 15 présente la démarche proposée dans le guide SFSTP [54] pour sélectionner un plan expérimental de la validation.

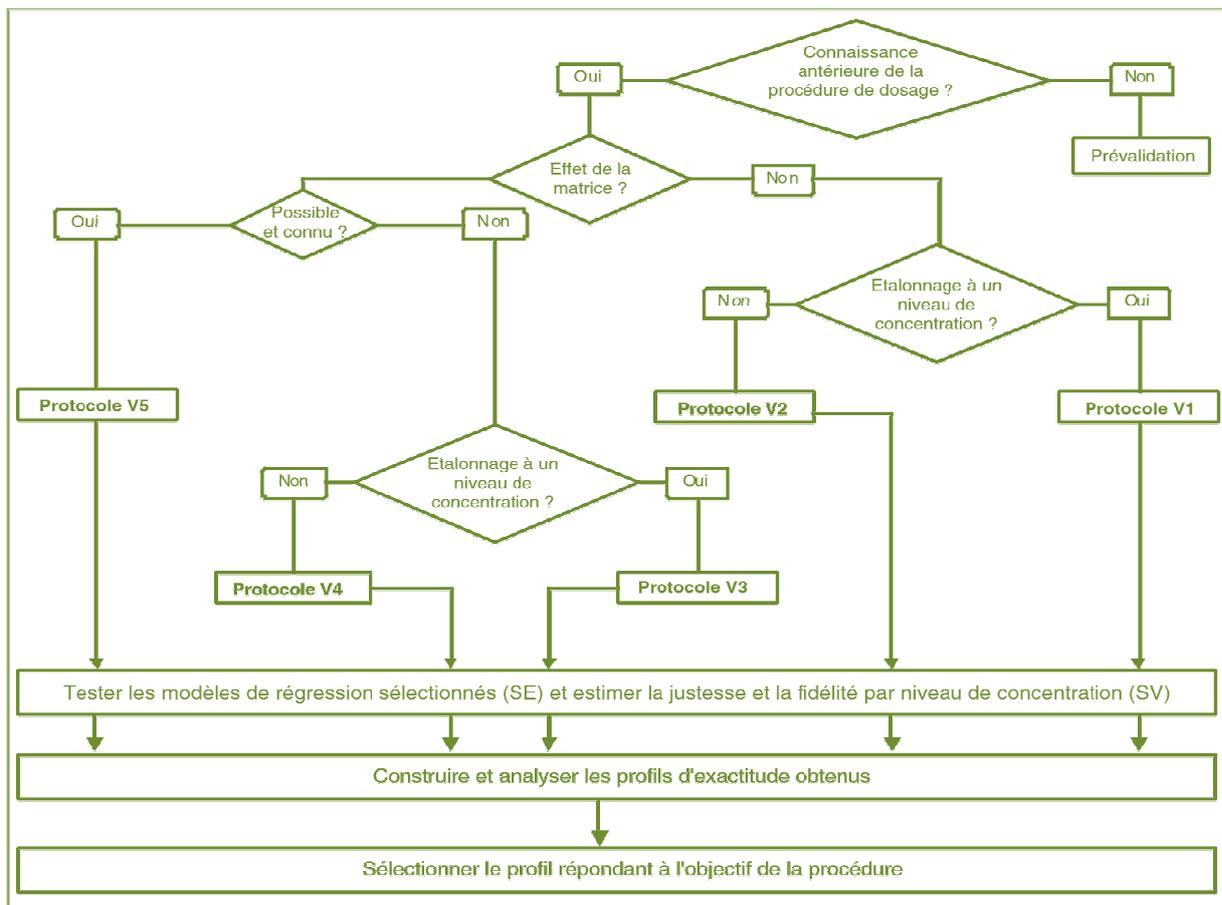


Figure 15 : Choix d'un protocole de validation [54].

SE : standard d'étalonnage. SV : standard de validation

Le tableau XVIII présente, le nombre minimal d'essais à réaliser pour valider une procédure analytique en fonction du protocole choisi.

Tableau XVIII : Choix de nombre des standards d'étalonnage et de validation en fonction du protocole retenu [54].

Standards	Niveau de concentration	Protocole				
		V1	V2	V3	V4	V5
SE. Etalonnage Sans la matrice	Bas		2		2	
	Médian	2	2 <sup>(2)</sup>	2	2 <sup>(2)</sup>	
	Haut	2 <sup>(1)</sup>	2	2 <sup>(1)</sup>	2	
SE. Etalonnage Avec la matrice	Bas				2	2
	Médian			2	2 <sup>(2)</sup>	2 <sup>(2)</sup>
	Haut			2 <sup>(1)</sup>	2	2
	Additif					2 <sup>(3)</sup>
SV. Validation Avec la matrice	Bas	3	3	3	3	3
	Médian	3	3	3	3	3
	Haut	3	3	3	3	3
Nombre minimum de séries		3	3	3	3	3
Nombre total d'essais		33	45	39	63	45

<sup>1</sup> : Sélection d'un niveau de concentration supérieure à la concentration cible pour l'étalonnage (exemple : 120% de la concentration cible).

<sup>2</sup> : Suppression possible du niveau de concentration médian pour l'étalonnage sur la base du modèle de régression retenu pour exprimer la fonction de réponse (exemple : modèle plus simple comme le modèle mathématique des moindres carrés). Dans ce cas, le nombre total est de 39 essais pour les protocoles V2 (sans matrice) et V5 (avec la matrice). Le nombre d'essais est de 51 pour le protocole V4.

<sup>3</sup> : Addition d'un niveau de concentration supplémentaire pour une fonction de réponse nécessitant un modèle plus complexe (exemple : fonction logistique à quatre paramètres).

**Note :**

En ce qui concerne la validation analytique des méthodes de dosage de traces de contaminants dans le cadre de la validation du nettoyage, une démarche allégée peut être observée, elle consiste essentiellement à démontrer la spécificité de la méthode vis-à-vis des outils de nettoyage et de prélèvement ainsi que des surfaces à nettoyer et de calculer les limites de détection et de quantification qui doivent être inférieures aux limites d'acceptation (exprimées en unités de concentration).

**4. Etude statistique de la validation analytique**

**4.1. Spécificité**

La spécificité peut être démontrée de deux manières :

- Soit par comparaison des réponses instrumentales obtenues à partir des solutions de placebo, de standard d'étalonnage et de standard de validation. La réponse de la solution placebo doit être statistiquement nulle, celles des solutions standards (SE et SV) doivent être statistiquement comparables.

- Soit par comparaison de la droite de régression linéaire (réponse ; concentrations) obtenue à partir des standards de validation (avec matrice) avec celle obtenue à partir des standards d'étalonnage.

La comparaison des droites est basée sur le test **t** de Student selon une stratégie statistique qui permet la recherche d'effet matrice et/ou des erreurs systématiques en vérifiant la spécificité de la méthode [50].

### 4.2. Fonction de réponse

Après obtention des données brutes des mesures effectuées sur les standards d'étalonnage, il convient d'établir une fonction de réponse qui relie les réponses instrumentales (Y) à la concentration (ou la quantité de la substance à doser) (X).

$$Y = f(X) + \varepsilon$$

Avec  $\varepsilon$ , l'erreur résiduelle associée à la fonction de réponse. Cette fonction n'est pas nécessairement linéaire mais elle doit être **strictement monotone** sur l'intervalle de dosage envisagé [55].

La fonction de réponse choisie doit **fournir une erreur résiduelle la plus faible possible**.

Différentes fonctions de réponse peuvent être envisagées lors de la validation d'une méthode analytique. Comme illustré au tableau XIX, le choix dépend du type de méthode (méthode physicochimique, bio analytique, immuno-dosage, etc.).

**Tableau XIX : Exemples de fonction de réponse [55].**

Type	Equation	Paramètres	Linéaire
<b>Droite passant par l'origine</b>	$Y = \beta X$	Pente $\beta$	Oui
<b>Fonction linéaire</b>	$Y = \alpha + \beta X$	Ordonnée à l'origine $\alpha$ Pente $\beta$	Oui
<b>Fonction quadratique</b>	$Y = \alpha + \beta X + \gamma X^2$	$\alpha, \beta, \gamma$	Oui
<b>Fonction logistique à 4 paramètres</b>	$Y = \alpha + \frac{\delta - \alpha}{1 + \left(\frac{X}{\gamma}\right)^\beta}$	$\alpha, \beta, \gamma, \delta$	Non
<b>Fonction logistique à 5 paramètres</b>	$Y = \alpha + \frac{\delta - \alpha}{1 + \left[\left(\frac{X}{\gamma}\right)^\beta\right]^\Psi}$	$\alpha, \beta, \gamma, \delta, \Psi$	Non

En industrie pharmaceutique et s'agissant des méthodes physicochimiques, la fonction de réponse la plus utilisée est une droite (passant par 0 ou non). Pour les méthodes bio-analytiques, la fonction quadratique peut être envisagée dans certains cas.

Des transformations mathématiques sont également envisageables. Par exemple, le logarithme népérien ou la racine carrée peuvent être appliquées à la concentration X ainsi qu'à la réponse Y. Il est cependant recommandé de n'appliquer ce type de transformation qu'avec les modèles linéaires [54].

4. 3. Alignement des observations

Si, pour un niveau de concentration, les quantités introduites ne sont pas identiques pour toutes les séries (souvent pour de raisons de pesées qui doivent être indépendantes), il est indispensable de procéder à un alignement des réponses sur la concentration moyenne. Cela consiste à transformer les réponses observées  $y_{ijk}$  en réponses alignées sur la moyenne des concentrations  $y_{ijk,c}$  [55].

Où ;

- $i \in [1, p]$  l'indice de série,
- $j \in [1, m]$  l'indice de concentration,
- $k \in [1, n]$  l'indice de répétition.

En validation, l'alignement s'applique aux réponses obtenues avec les standards de validation en utilisant les équations ou fonction de réponse obtenues avec les standards de d'étalonnage. Ainsi l'alignement des  $n_{ij}$  répétitions du niveau de concentration  $j$  de la série  $i$  s'effectue comme suit :

$$y_{ijk,c} = y_{ijk} + f(\bar{x}_{ij}) - f(x_{ijk})$$

Avec :

- $x_{ijk}$ : Concentration introduite du niveau  $j$  de la série  $i$  répétition  $k$ .
- $\bar{x}_{ij}$ : Moyenne des concentrations introduites du niveau  $j$  de la série  $i$ .
- $y_{ijk,c}$ : Réponse instrumentale obtenue pour la concentration  $x_{ijk}$
- $y_{ijk}$ : Réponse instrumentale alignée sur la concentration moyenne  $\bar{x}_{ij}$

Le tableau XX illustre les règles d'alignement pour les différentes fonctions de réponses.

**Tableau XX : Règles d'alignement pour différentes fonctions de réponse [55].**

Fonction de réponse	Règle d'alignement
Droite (passant ou pas par 0)	$y_{ijk,c} = y_{ijk} + \hat{\beta}_i [\bar{x}_{ij} - x_{ijk}]$
Fonction quadratique	$y_{ijk,c} = y_{ijk} + \hat{\beta}_i [\bar{x}_{ij} - x_{ijk}] + \hat{\gamma}_i [\bar{x}_{ij} - x_{ijk}]^2$
Fonction logistique	$y_{ijk,c} = y_{ijk} + (\hat{\delta}_i - \hat{\alpha}_i) \left[ \frac{1}{1 + \left(\frac{\hat{\gamma}_i}{\bar{x}_{ij}}\right)^{\hat{\beta}_i}} - \frac{1}{1 + \left(\frac{\hat{\gamma}_i}{x_{ijk}}\right)^{\hat{\beta}_i}} \right]$

4.4. Prédiction inverses

Après avoir choisi le modèle mathématique adéquat, les concentrations en analyte sont estimées à partir de l'équation de la fonction et les réponses (alignées ou pas), on parle des prédictions inverses.

Les prédictions inverses pour les différents modèles de régression sont obtenues pour chaque fonction de réponse selon les équations décrites dans le tableau XXI.

Tableau XXI : Calcul des prédictions inverses pour différentes fonctions de réponse [55].

Type de la fonction de réponse	Equation
Droite passant par 0	$x_{ijk,calc} = \frac{y_{ijk}}{\hat{\beta}_i}$
Droite (ne passant pas par 0)	$x_{ijk,calc} = \frac{y_{ijk} - \hat{\alpha}_i}{\hat{\beta}_i}$
Fonction quadratique	$x_{ijk,calc} = \frac{-\hat{\beta}_i + \sqrt{\hat{\beta}_i^2 - 4\hat{\gamma}_i(\hat{\alpha}_i - y_{ijk})}}{\hat{\beta}_i}$
Fonction logistique à 4 paramètres	$x_{ijk,calc} = \hat{\gamma}_i \left( \frac{\hat{\delta}_i - \hat{\alpha}_i}{y_{ijk} - \hat{\alpha}_i} - 1 \right)^{\frac{1}{\hat{\beta}_i}}$
Fonction logistique à 5 paramètres	$x_{ijk,calc} = \hat{\gamma}_i \left( \left( \frac{\hat{\delta}_i - \hat{\alpha}_i}{y_{ijk} - \hat{\alpha}_i} - 1 \right)^{\frac{1}{\hat{\beta}_i}} \right)^{\frac{1}{\hat{\beta}_i}}$

**Note ;**

- Si les observations ont été alignées, il convient de remplacer les valeurs de yijk par celles de yijk,c dans le tableau précédent.
- Si une transformation a été utilisée il est demandé de réaliser les transformations inverses après ce calcul en retour [55, 58].

**4. 5. Calcul de la justesse et de la fidélité**

**4. 5. 1. Modèle**

« L'estimation de la justesse et de la fidélité de la méthode s'effectue à partir des concentrations calculées provenant des standards de validation. Cette estimation est réalisée à chacun des j niveaux de concentrations considérés à l'aide du modèle statistique suivant » [55]:

$$x_{ijk} = \mu_j + \alpha_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Avec :

- $x_{ijk}$  est la k-ième concentration calculée du niveau j de la i-ème série.
- $\mu_j$  est la moyenne des concentrations calculées du niveau de concentration j.
- $\alpha_{ij}$  est au niveau j l'écart entre la moyenne de la i-ème série et la moyenne  $\mu_j$  ;  $\alpha_{ij}$  est considéré comme une variable aléatoire ayant une distribution normale de moyenne 0 et de variance  $\sigma^2_{B,j}$ .
- $\varepsilon_{ijk}$  est l'erreur expérimentale, considérée comme une variable aléatoire ayant une distribution normale de moyenne 0 et de variance  $\sigma^2_{W,j}$ .

Les variances  $\sigma^2_{B,j}$  et  $\sigma^2_{W,j}$  représentent les variances inter-série et intra-série, respectivement.

La méthode du maximum de vraisemblance restreint est utilisée pour estimer à chaque niveau de concentration j les paramètres  $\mu_j$ ,  $\sigma^2_{B,j}$  et  $\sigma^2_{W,j}$  du modèle [55].

$$\hat{\mu} = \frac{1}{\sum_{i=1}^p n_{ij}} \sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^{n_{ij}} x_{ijk,calc}$$

$$MSM_j = \frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p n_{ij} (\bar{x}_{ij,calc} - \bar{x}_{j,calc})^2$$

$$MSE_j = \frac{1}{\sum_{i=1}^p n_{ij} - p} \sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^{n_{ij}} (x_{ijk,calc} - \bar{x}_{ij,calc})^2$$

Où :  $MSM_j$  et  $MSE_j$  : maximum de vraisemblances pour chaque niveau de concentration j.

- $\bar{x}_{i,j,calc}$  : moyenne des concentrations calculées du niveau j de la série i.
- $\bar{x}_{j,calc}$  : moyenne des concentrations calculées du niveau j.
- $\bar{x}_{ijk,calc}$  : concentration calculée du niveau j de la série i répétition k.
- $n$  : nombre de répétition.
- $p$  : nombre de série.

Dans le cas d'un schéma équilibré (le nombre de répétitions n est identique pour tout niveau de concentration dans chaque série), les composantes de la variance du niveau sont estimées comme suit [55] ;

- Si  $MSE_j < MSM_j$  ;

$$\hat{\sigma}_{W,j}^2 = MSE_j$$

$$\hat{\sigma}_{B,j}^2 = \frac{MSM_j - MSE_j}{n}$$

- Si  $MSE_j > MSM_j$  ;

$$\hat{\sigma}_{B,j}^2 = 0$$

$$\hat{\sigma}_{W,j}^2 = \frac{1}{pn - 1} \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^k (x_{ijk,calc} - \bar{x}_{j,calc})^2$$

#### 4. 5. 2. Justesse

« La justesse (ou le biais) de la méthode à un niveau de concentration est obtenue en calculant la différence entre la moyenne arithmétique des concentrations introduites et la moyenne des concentrations calculées » [55].

Le biais peut s'exprimer en termes absolu, relatif ou de recouvrement par rapport aux quantités introduites, comme suit :

$$biais_j = \hat{\mu}_j - \bar{x}_j$$

$$biais(\%)_j = 100 \times \frac{\hat{\mu}_j - \bar{x}_j}{\bar{x}_j}$$

$$Recouvrement(\%)_j = 100 \times \frac{\hat{\mu}_j}{\bar{x}_j}$$

Avec :

- $\hat{\mu}_j$  : moyenne des concentrations calculées du niveau j
- $\bar{x}_j$  : moyenne des concentrations introduites du niveau j.

4. 5. 3. Fidélité

« L'estimation de la variance intra-série donne une estimation de la variance de répétabilité tandis que la somme des estimations des variances intra- et inter-série donne une estimation de la variance de fidélité intermédiaire » [55] :

$$\text{Répétabilité} : \hat{\sigma}_{Re,j}^2 = \hat{\sigma}_{W,j}^2$$

$$\text{Fidélité intermédiaire} : \hat{\sigma}_{IP,j}^2 = \hat{\sigma}_{W,j}^2 + \hat{\sigma}_{B,j}^2$$

$$CV_{\text{répétabilité}} = 100 \hat{\sigma}_{W,j} / \bar{x}_{j,calc}$$

$$CV_{\text{Fidélité intermédiaire}} = 100 \hat{\sigma}_{I,P} / \bar{x}_{j,calc}$$

4. 6. Calcul de l'exactitude

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée, elle est déterminée pour chaque mesure :

$$\text{Exactitude} = x - \mu$$

Avec

- $x$  : concentration prédite
- $\mu$  : concentration introduite

Pour chaque modèle et chaque observation l'exactitude de la mesure en valeur relative est donnée comme suit :

$$\text{Exactitude}(\%) = \frac{x - \mu}{\mu} \times 100$$

4.6.1. Erreur totale et profil d'erreur totale :

Chaque mesure obtenue est le reflet de la vraie valeur, du biais de la méthode et de sa fidélité, ce qui s'exprime comme suit ;

$$X = \mu + |\text{Biais}|_{\text{procédure}} + \text{Fidélité Intermédiaire}_{\text{procédure}}$$

$$X - \mu = |\text{Biais}|_{\text{procédure}} + \text{Fidélité Intermédiaire}_{\text{procédure}}$$

$$X - \mu = \text{Erreur Totale}_{\text{procédure}}$$

$$ET\% = |\text{Biais}|\% + CV_{FI}\%$$

L'erreur totale d'une procédure analytique évalue son aptitude à produire des résultats exacts. Donc l'estimation de l'erreur totale d'une procédure est fondamentale pour juger de la validité d'une méthode.

Cette erreur totale, comme indiqué ci-dessus, est la somme de la justesse (biais) et de la fidélité [55].

4.6.2. Calcul de l'intervalle de tolérance

L'importance dans une validation analytique n'est pas uniquement la validité des résultats obtenus avec l'erreur totale, mais plutôt la garantie ou une représentation de ce que la même procédure analytique donnera comme résultats dans le futur, **C'est le rôle de l'intervalle de tolérance et du profil d'exactitude** [55].

L'estimation des paramètres  $\mu_j, \hat{\sigma}_{B,j}$  et  $\hat{\sigma}_{r,j}$  à chaque niveau de concentration  $j$  a pour but d'estimer la **proportion attendue** d'observations dans les limites d'acceptation prédéfinies  $[-\lambda, +\lambda]$ .

L'intervalle de tolérance est calculé pour chaque niveau de concentration envisagé avec les standards de validation.

Pratiquement, l'intervalle de tolérance est calculé (en valeur absolue) selon les formules ci-dessous [55] ;

Avec ;

$$E_{\hat{\mu}_M \hat{\sigma}_M} \{P_x[\hat{\mu}_M - k\hat{\sigma}_M < X < \hat{\mu}_M + k\hat{\sigma}_M | \hat{\mu}_M, \hat{\sigma}_M]\} = \beta$$

$$\hat{\sigma}_{F,I,j}^2 = \hat{\sigma}_{W,j}^2 + \hat{\sigma}_{B,j}^2$$

$$R_j = \frac{\hat{\sigma}_{B,j}^2}{\hat{\sigma}_{W,j}^2}$$

$$B_j = \sqrt{\frac{R_j + 1}{nR_j + 1}}$$

$$v = \frac{(R + 1)^2}{\frac{(R + 1/n)^2}{P - 1} + \frac{1 - 1/n}{Pn}}$$

$$Q_t \left( v; \frac{1 + \beta}{2} \right)$$

**n** : nombre de répétitions

**p** : nombre de séries

**v** : **Degré de liberté**

**β** ( $\beta$  – expectation tolerance interval) : représente le pourcentage des résultats dont la différence entre la valeur déterminée  $X$  et la valeur vraie  $V$  est inférieure, en valeur absolue à  $\lambda$

**Q<sub>t</sub>** : quantile  $\beta$  de la distribution t de Student à  $v$  degrés de liberté

Le même intervalle en échelle relative devient :

$$\left[ \text{biais}(\%)_j - Q_t \left( v; \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{PnB_j^2}} CV_{F,I,j}; \text{biais}(\%)_j + Q_t \left( v; \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{PnB_j^2}} CV_{F,I,j} \right]$$

La méthode est considérée comme étant exacte au niveau de chance  $\beta$  pour le niveau de concentration concerné, si l'intervalle de tolérance est inclus dans les limites  $[-\lambda, +\lambda]$  préalablement définies [55].

### 4.6.3. Etablissement du profil d'exactitude

Le profil d'exactitude est obtenu en reliant entre elles les bornes supérieures puis les bornes inférieures de l'intervalle de tolérance [55] :

$$L_j = \text{biais}(\%)_j - Q_t\left(v; \frac{1+\beta}{2}\right) \sqrt{1 + \frac{1}{PnB_j^2} CV_{F,I,j}}$$

$$U_j = \text{biais}(\%)_j + Q_t\left(v; \frac{1+\beta}{2}\right) \sqrt{1 + \frac{1}{PnB_j^2} CV_{F,I,j}}$$

Si le profil d'exactitude est totalement inclus dans les limites d'acceptation  $[-\lambda, +\lambda]$ , on peut déduire qu'en analyse de routine, le pourcentage des résultats dont la différence entre la valeur déterminée  $X$  et la valeur vraie  $V$  est inférieur, en valeur absolue à  $\lambda$  sera au moins égale à  $\beta$ .

$$\text{prob}(|X - V| < \lambda) \geq \beta$$

### 4.6.4. Choix de la fonction de réponse

Parmi les fonctions de réponse testées, seules sont retenues celles dont les profils d'exactitude sont compris dans l'intervalle de tolérance. Outre ce critère de sélection, la fonction de réponse la plus **simple** est choisie (Exemple : fonction linéaire simple ou passant par zéro).

Il est à noter, qu'en plus de ces critères de choix, le modèle retenu doit donner une linéarité avec une droite ayant un coefficient de détermination satisfaisant ( $R^2 \geq 0,99$  est souhaitable).

### 4.7. Linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité de l'analyte dans l'échantillon. Rappelons que l'exigence de linéarité s'applique aux résultats (concentration calculée =  $f$  (concentrations introduites)), pas aux réponses (signal =  $f$  (concentrations introduites)) [55].

### 4.8. Limites de quantifications

A partir du profil d'exactitude, l'intersection entre les tracés (inférieur et supérieur) et les limites d'acceptation définissent les limites de quantification basse et haute de la procédure.

« Entre ces deux limites, on définit l'intervalle de dosage. De la sorte que, les limites de quantification sont bien les valeurs extrêmes qui peuvent être quantifiées avec une exactitude définie » [55].

### 4.9. Robustesse

#### 4.9.1. Définition

« Capacité d'une méthode d'analyse à rendre des résultats exacts en présence de faibles changements des conditions expérimentales, susceptibles de se produire dans l'utilisation de cette procédure » [50].

Pour la détermination pratique de la robustesse, on applique la procédure d'analyse en faisant varier les paramètres retenus. Afin de diminuer le nombre d'essais à réaliser, un plan d'expérience factoriel sera utilisé.

Ce changement consiste en tout écart pouvant se produire pour un paramètre donné par rapport à sa valeur nominale définie dans la procédure d'analyse.

#### 4.9.2. Paramètres opératoires :

Les paramètres opératoires à considérer pour une étude de robustesse sont ;

- Paramètre A : Teneur en principe actif.
- Paramètres B, C, D... : Paramètres liés aux conditions analytiques de la méthode (débit et pH de la phase mobile, longueur d'onde de détection... etc.).

La **valeur** donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée **niveau**.

#### Un facteur varie entre deux limites

La limite inférieure dite **niveau bas** noté -1

La limite supérieure dite **niveau haut** noté +1

#### 4.9.3. Constitution d'un plan d'expérience : Exemple d'un plan à 3 facteurs

Le nombre d'essais à réaliser est de  $2^3 = 8$  (nombre de niveaux de variation d'un paramètre élevé à la puissance de nombre de paramètres étudiés).

La matrice des essais des facteurs est construite sous forme d'un tableau de la façon suivante :

- Colonne du premier facteur : alternance -1 et +1 (de 1 en 1)
- Colonne du deuxième facteur : alternance -1 et +1 (de 2 en 2)
- Colonne du troisième facteur : alternance -1 et +1 (de 4 en 4)

**Tableau XXII : Plan d'expérience pour l'étude robustesse [50].**

Numéro de l'essai	Paramètres			Interactions				Réponses
	A (teneur)	B	C	AB	AC	BC	ABC	
1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	y <sub>1</sub>
2	+1	-1	-1	-1	-1	+1	+1	y <sub>2</sub>
3	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	y <sub>3</sub>
4	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	y <sub>4</sub>
5	-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1	y <sub>5</sub>
6	+1	-1	+1	-1	+1	-1	-1	y <sub>6</sub>
7	-1	+1	+1	-1	-1	+1	-1	y <sub>7</sub>
8	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	y <sub>8</sub>

## CHAPITRE IV : VALIDATION DES PROCEDURES ANALYTIQUES

Le signe contenu dans les colonnes A, B et C est celui de la déviation des paramètres par rapport à sa valeur nominale.

Les notations AB, AC, BC désignent une interaction éventuelle à deux paramètres sur la réponse  $y_i$ . La notation ABC désigne une interaction à 3 paramètres.

Les signes des colonnes AB, AC ; BC et ABC est le produit algébrique des colonnes A, B et C [50].

Chaque ligne du tableau XXII représente un essai.

### 4.9.5. Détermination de l'effet d'un paramètre

Afin d'évaluer la robustesse d'une méthode analytique, on évaluera l'effet de chacun des 03 paramètres décrits dans le tableau XXII et leurs interactions éventuelles sur la teneur en principe actif dans la solution échantillon [50].

#### ➤ Notations [50] :

a, b et c : respectivement, effet du paramètre A, B et C

ab : effet de l'interaction des deux paramètres A et B

ac : effet de l'interaction des deux paramètres A et C

bc : effet de l'interaction des deux paramètres B et C

abc : effet de l'interaction des trois paramètres A, B et C.

#### ➤ Calcul de la réponse $y_i$

Dans le tableau XXII, la réponse obtenue dans un essai est la somme des effets des paramètres multipliés par leurs signes dans la **ligne** considérée + la moyenne  $y_0$

Numéro de l'essai	Paramètres			Interactions				Réponse
	A (Teneur)	B	C	AB	AC	BC	ABC	
1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	$y_1$
Effet	a	b	c	ab	Ac	bc	abc	
Effet x signe	-a	-b	-c	ab	Ac	bc	-abc	somme
$y_1 = y_0 + \text{somme}$								

$$y_1 = y_0 - a - b - c + ab + ac + bc - abc$$

$$y_2 = y_0 + a - b - c - ab - ac + bc + abc$$

.....

$$y_8 = y_0 + a + b + c + ab + ac + bc + abc$$

#### ➤ Calcul de l'effet d'un paramètre (ou d'une interaction des paramètres)

Les effets seront calculés pour chaque paramètre somme suit :

- Multiplier chaque réponse par le signe correspondant de la **colonne** du facteur
- Additionner les produits obtenus.
- Diviser la somme par le nombre d'essais.

## CHAPITRE IV : VALIDATION DES PROCEDURES ANALYTIQUES

- **Calcul de l'intervalle de confiance d'un paramètre :** Pour chaque paramètre ou interaction de paramètres, l'intervalle de confiance est calculé selon la formule suivante [50] ;

$$\text{Intervalle de confiance} = \text{Effet} \pm \frac{\sigma_{\text{exp}} \times t_{\text{student}}}{\sqrt{N}}$$

$\sigma_{\text{exp}}$  : écart type expérimental des réponses expérimentales

$t_{\text{student}}$  : coefficient de Student pour une probabilité  $1-\alpha/2$  et un degré de liberté (ddl) = n- 1

Pour un plan d'expérience à 3 paramètres, N = 8 et  $t_{\text{Student}}(\alpha = 0.05 \text{ ddl}=7) = 2.365$  ;

Intervalle de confiance = Effet  $\pm$  0.836  $\sigma_{\text{exp}}$

**Tableau XXIII : Calcul de l'effet et de l'intervalle de confiance des paramètres A, B, C et de leurs interactions.**

Essai	Réponses Y <sub>i</sub>	Signe de A x y <sub>i</sub>	Signe de B x y <sub>i</sub>	Signe de C x y <sub>i</sub>	Signe de AB x y <sub>i</sub>	Signe de AC x y <sub>i</sub>	Signe de BC x y <sub>i</sub>	Signe de ABC x y <sub>i</sub>
1	y <sub>1</sub>	-y <sub>1</sub>	-y <sub>1</sub>	-y <sub>1</sub>	+y <sub>1</sub>	+y <sub>1</sub>	+y <sub>1</sub>	-y <sub>1</sub>
2	y <sub>2</sub>	+y <sub>2</sub>	-y <sub>2</sub>	-y <sub>2</sub>	-y <sub>2</sub>	-y <sub>2</sub>	+y <sub>2</sub>	+y <sub>2</sub>
3	y <sub>3</sub>	-y <sub>3</sub>	+y <sub>3</sub>	-y <sub>3</sub>	-y <sub>3</sub>	+y <sub>3</sub>	-y <sub>3</sub>	+y <sub>3</sub>
4	y <sub>4</sub>	+y <sub>4</sub>	+y <sub>4</sub>	-y <sub>4</sub>	+y <sub>4</sub>	-y <sub>4</sub>	-y <sub>4</sub>	-y <sub>4</sub>
5	y <sub>5</sub>	-y <sub>5</sub>	-y <sub>5</sub>	y <sub>5</sub>	+y <sub>5</sub>	-y <sub>5</sub>	-y <sub>5</sub>	+y <sub>5</sub>
6	y <sub>6</sub>	+y <sub>6</sub>	-y <sub>6</sub>	y <sub>6</sub>	-y <sub>6</sub>	+y <sub>6</sub>	-y <sub>6</sub>	-y <sub>6</sub>
7	y <sub>7</sub>	-y <sub>7</sub>	+y <sub>7</sub>	y <sub>7</sub>	-y <sub>7</sub>	-y <sub>7</sub>	+y <sub>7</sub>	-y <sub>7</sub>
8	y <sub>8</sub>	+y <sub>8</sub>	+y <sub>8</sub>	y <sub>8</sub>	+y <sub>8</sub>	+y <sub>8</sub>	+y <sub>8</sub>	+y <sub>8</sub>
Sommes	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>
Effets	y <sub>0</sub> = S <sub>0</sub> /8	a = S <sub>1</sub> /8	b = S <sub>2</sub> /8	c = S <sub>3</sub> /8	ab = S <sub>4</sub> /8	ac = S <sub>5</sub> /8	bc = S <sub>6</sub> /8	abc = S <sub>7</sub> /8
Lim inf IC = Effet – 0,836 $\sigma_{\text{exp}}$								
Lim sup IC = Effet + 0,836 $\sigma_{\text{exp}}$								

Lim inf IC : Limite inferieur de l'intervalle de confiance

Lim sup IC : Limite supérieur de l'intervalle de confiance

### 4.9.5. Interprétation :

- Si la **valeur 0 est comprise** dans l'intervalle de confiance d'un paramètre, l'effet de ce paramètre pour les variations admises est **non significatif** sur la réponse obtenue. La **méthode sera jugée robuste** pour la variation du ce paramètre [50].
- Si la **valeur 0 n'est pas comprise** dans l'intervalle de confiance d'un paramètre, l'effet de ce paramètre pour les variations admises est **significatif** sur la réponse obtenue. La **méthode sera jugée non robuste** pour la variation du ce paramètre (pour le paramètre A et étant donnée la sensibilité de la méthode à la teneur du principe actif, l'intervalle de confiance de ce paramètre doit obligatoirement contenir la valeur 0) [50].

### 4.10. Stabilité des solutions

La stabilité des solutions n'est pas un paramètre propre de la validation, mais il est nécessaire de l'évaluer durant la phase de validation car elle permet de définir les conditions et la durée de stabilité des différentes solutions analysées.

Les solutions concernées par l'étude sont ;

- Solution standard : SE 100 %.
- Solution échantillon : SV 100%.

**La stabilité de ces solutions est étudiée pour une durée bien déterminée (généralement de 3 à 7 jours, correspondant à la durée moyenne d'une validation analytique) et dans différentes conditions. A titre d'exemple et sans être limitatif, les conditions suivantes peuvent être appliquées pour une analyse par HPLC.**

- Stabilité dans le passeur échantillon.
- Stabilité à température ambiante.
- Stabilité au réfrigérateur (2 – 8 °C) au dans les conditions de congélation.

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**

# **CHAPITRE I**

## **VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

Le présent chapitre a pour objet de documenter la méthodologie et les résultats de la validation du nettoyage des balances et des surfaces de la centrale de pesée (CDP) de Biopharm industrie. Le protocole de validation proposé fait référence aux exigences réglementaires et de qualité des BPF, à la littérature scientifique et à la politique qualité de l'entreprise.

### 1. Matériel et méthodes

#### 1.1. Matériel

##### 1.1.1. Description de la CDP de Biopharm industrie

La CDP de BIOPHARM industrie est organisée en plusieurs zones ;

- Zone d'accès au magasin où se trouvent les matières premières à peser pour la fabrication d'un nombre de lots précis durant une journée.
- Les box de pesée : deux box identiques où sont pesées les matières premières sous un flux d'air laminaire. Chaque box contient 3 balances :
  - Balance 1 : capacité de 300 Kg
  - Balance 2 : capacité de 64 Kg
  - Balance 3 : capacité de 420 g
- La zone de stockage intermédiaire : où sont regroupées les matières pesées dans des sacs alimentaires étiquetés.

Le schéma de la CDP est présenté dans la figure 16.

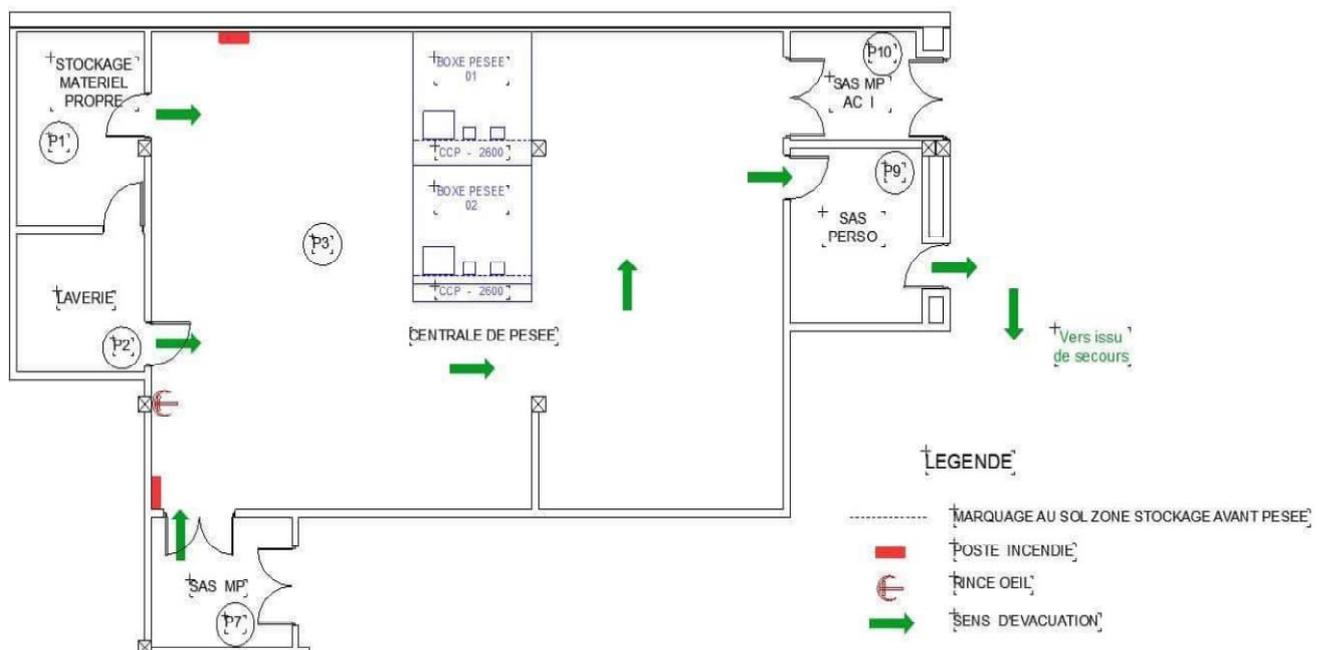


Figure 16 : Schéma de la centrale de pesée de Biopharm industrie

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

### 1.1.2. Matériel de contrôle

**Tableau XXIV : Liste du matériel de contrôle utilisé – Validation du nettoyage de la CDP**

Désignation	Marque	Usage
HPLC	SHIMADZU LC20 (1)	Dosage (obtention des chromatogrammes)
	Waters, Alliance 2695 – Détecteur UV (2)	
	Waters, Alliance 2695 – Détecteur Barrette de diodes (2)	
	Dionex (2)	
Purificateur d'eau	Human corporation (1)	Eau purifiée
Distillateur	Lab-Tech (1)	Eau distillée
Pompe à vide	Fisher Bioblock Scientific $P_{max} = 4$ bar (1)	Filtration de la phase mobile
Sonicateur	Advantage-LAB	Solubilisation
Agitateurs magnétique	NAHITA Model690-1 (1)	Homogénéisation des solutions
Balances analytiques	KERN, Précision $10^{-5}$ g (1)	Pesée
	Sartorius précision $10^{-5}$ g (2)	
	METLER TOLEDO Précision $10^{-3}$ g (1)	
pH-mètre	METLER TOLEDO (1), (2)	Mesure de pH

(1) : Matériel du laboratoire de Chimie Analytique – Département de Pharmacie de Tizi Ouzou.

(2) Matériel du Laboratoire de Contrôle Qualité – Biopharm Industrie.

**Tableau XXV : Liste de la verrerie utilisée– Validation du nettoyage de la CDP**

Verreries	Autres
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Fioles jaugées : 50 mL, 100 mL, 250 mL, 1000 mL, 2000 mL.</li> <li>– Bêchers.</li> <li>– Eprouvettes : 1000 mL, 2000 mL.</li> <li>– Pipettes graduées de 20 ml.</li> <li>– Pipettes jaugées : 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL et 20 mL.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Poires.</li> <li>– Pissettes.</li> <li>– Spatules.</li> <li>– Les filtres seringues millipores.</li> <li>– Barreaux magnétiques.</li> </ul>

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau XXVI : Liste des réactifs utilisés– Validation du nettoyage de la CDP**

Réactifs	Provenance	Données physicochimique
Phosphate Mono-potassique	SIGMA ALDRICH	Formule brute : $\text{KH}_2\text{PO}_4$ N° CAS : 7778-77-0 Mr : 136,09 g/mol
Acide chlorhydrique	SIGMA ALDRICH	Formule brute : $\text{HCl}$ N° CAS : 7647-01-0 Mr:36,46 g/mol $\rho$ : 1,19 g / $\text{cm}^{-3}$
Acide phosphorique	SIGMA ALDRICH	Formule brute : $\text{H}_3\text{PO}_4$ N° CAS : 7664-38-2 Mr: 98,00 g/mol $\rho$ : 1,83 g / $\text{cm}^{-3}$
Méthanol grade HPLC	BIOCHEM Chemopharma	Formule brute : $\text{CH}_4\text{O}$ N° CAS : 67-56-1 Mr: 32,04 g/mol $\rho$ : 0,79 g / $\text{cm}^{-3}$
Acétonitrile grade HPLC	BIOCHEM Chemopharma	Formule brute : $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ N° CAS : 75-05-8 Mr: 41,05 g/mol $\rho$ : 0,8g / $\text{cm}^{-3}$
Eau distillée	Préparée avec le distillateur LAB-TECH	Formule brute : $\text{H}_2\text{O}$ N° CAS : 7732-18-5 Mr: 18 g/mol $\rho$ : 1 g / $\text{cm}^{-3}$

**Tableau XXVII : Liste des matières premières utilisées– Validation du nettoyage de la CDP**

Matières premières	Provenance
Principes actifs	Kétoprofène Biopharm industrie

**Tableau XXVIII : Caractéristiques des écouvillons utilisés. – Validation du nettoyage de la CDP**

Ecouvillons	Dimensions	Provenance
CleanTips® Swabs TX 714A, model Large Alpha® Swab. Matériaux : polyester	Largeur de la tête: 12,7 mm Largeur du manche: 5,2 mm Longueur de la tête : 25,7 mm Longueur du manche : 101,8 mm Longueur totale : 127,5 mm	ITW Texwipe Philippines
		

## 1.2. Méthodes

La méthodologie de validation du nettoyage de la centrale de pesée selon l'approche pires cas repose sur les éléments suivants ;

- Choix du traceur ;
- Détermination des critères d'acceptation.
- Validation de la méthode de dosage du contaminant à l'état de traces.
- Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.
- Reproductibilité du procédé de nettoyage.

### 1.2.1. Choix du traceur

#### 1.2.1.1. Choix du traceur physicochimique

Les critères de sélection et les échelles associées pour chaque critère retenu pour le choix du traceur physicochimique sont ;

- A. Nature de la matière première :** Dans le cadre de la présente étude, quatre types de matières premières sont distingués ; principes actifs, conservateurs, excipients à effet notoire et excipients sans effet notoire. La nature de la matière première est cotée de 1 à 4 comme indiqué dans le tableau XXIX.

**Tableau XXIX : Echelle de la nature d'une matière première pour le choix du traceur physicochimique. Validation du nettoyage de la CDP**

Nature de la matière première (N)	Coefficient attribué
Excipient sans effet notoire	N = 1
Excipient à effet notoire	N = 2
Conservateurs (antimicrobiens et antioxydants)	N = 3
Principe actif	N = 4

- B. Etat physique de la matière première :** Les matières premières objet d'étude ont des états physiques différents, la majorité sont à l'état de poudre (solide), certaines à l'état liquide et d'autres sont sous forme de semi-solides.

L'état physique de la matière première est coté de 1 à 3 comme l'indique le tableau XXX.

**Tableau XXX : Echelle de l'état physique d'une matière première pour le choix du traceur physicochimique. Validation du nettoyage de la CDP**

Etat physique de la matière première (E)	Coefficient attribué
Liquide	E = 1
semi solide (pâteux)	E = 2
Solide	E = 3

- C. Solubilité dans l'eau et dans l'alcool :** Les termes descriptifs retenus sont ceux décrits par la pharmacopée européenne et énoncés dans le tableau VII. La solubilité d'une matière première est cotée d'un coefficient noté de 1 à 3 tel qu'est décrit dans le tableau XXXI.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

**Tableau XXXI : Echelle de solubilité d'une matière première pour le choix du traceur physicochimique. Validation du nettoyage de la CDP**

Solubilité dans l'alcool (S)	Coefficient attribué
Très soluble, facilement soluble et soluble	S = 1
assez soluble et peu soluble	S = 2
très peu soluble et pratiquement insoluble.	S = 3

Comme référence pour ce paramètre, sont consultés les documents suivants ; Pharmacopées (européenne et américaine), fiches des données de sécurité et tout autre document scientifique.

Pour tenir compte de la solubilité d'une substance dans les deux solvants, la somme des deux coefficients est utilisée pour le paramètre solubilité afin de calculer le score final.

### D. Nettoyabilité :

L'échelle de nettoyabilité est présentée dans le tableau XXXII, elle est notée de 1 à 5. L'attribution des coefficients suit la même méthode que l'approche traditionnelle de validation du nettoyage des équipements de fabrication.

**Tableau XXXII : Echelle de nettoyabilité**

Termes descriptifs de la nettoyabilité	Coefficient attribué
Facile à nettoyer	Net = 1
Moyennement facile à nettoyer	Net = 2
Difficile nettoyer à nettoyer	Net = 3
Très difficile à nettoyer	Net = 4
Enormément difficile	Net = 5

**Note :** Les matières premières pour lesquelles les données nettoyabilité ne sont pas suffisamment disponibles sont considérées comme **difficiles à nettoyer**, ce qui correspond à une situation défavorable. Une révision de la matrice sera effectuée continuellement et à fur et à mesure de la disponibilité de ces données de nettoyabilité.

### E. Toxicité : L'échelle de toxicité choisie est celle établie par **Hodge et Sterner [31]**.

Afin d'attribuer un indice proportionnel à la toxicité d'une substance, la numérotation est volontairement inversée (le chiffre le plus grand est donné à la toxicité la plus élevée donc à la DL 50 la plus basse) et ce, pour rendre proportionnelle la toxicité à l'indice attribué.

L'échelle de toxicité est notée de 1 à 6 comme l'indique le tableau XXXIII.

**Tableau XXXIII : Echelle de toxicité**

Termes descriptifs de la toxicité	DL 50 par voie orale	Coefficient attribué
Relativement inoffensif	> 15 g / Kg	T = 1
Presque pas toxique	5 – 15 g / Kg	T = 2
Légèrement toxique	0,5 – 5 g / Kg	T = 3
Modérément toxique	50 – 500 mg / Kg	T = 4
Hautement toxique	1 - 50 mg / Kg	T = 5
Extrêmement toxique	< 1 mg / Kg	T = 6

Les valeurs des DL50 sont décrites dans les fiches des données de sécurité (FDS) ou SDS (pour Safety Data Sheet en anglais) des substances et dans la littérature scientifique.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

**F. Volatilité et pulvérulence :** Coté d'un coefficient noté de 1 à 2 comme décrit dans le tableau XXXIV. Les données de volatilité sont recueillies auprès d'un opérateur qualifié et expérimenté dans le nettoyage de la centrale de pesée.

**Tableau XXXIV: Echelle de volatilité d'une matière première pour le choix du traceur physicochimique. Validation du nettoyage de la CDP**

Volatilité (V)	Coefficient attribué
Non volatile	V = 1
Volatile	V = 2

**Note :** Les matières premières pour lesquelles les données de volatilité ne sont pas disponibles sont considérées comme étant volatiles.

Dans la présente étude, à l'exception du **carbomères** (polymère de l'acide acrylique) et de la **silice colloïdale** qui présentent une grande volatilité et une forte irritabilité des voies respiratoires, **ne sont pas tenus en compte les excipients sans effets notoires** (vu leur nombre très important). Car d'une part, ils possèdent des faibles coefficients pour les critères nature et toxicité, donc leur score final serait faiblement coté et d'autre part, de la non disponibilité d'outil analytique pour leur dosage comparativement aux principes actifs.

**Résultats :** Le produit P (score final) des coefficients des critères est calculé, le **pire cas** correspond à matière première ayant obtenu le **score le plus élevé**.

$$P = N \times E \times S \times (2 \times \text{Net}) \times (2 \times T) \times V$$

**Avec ;**

- N : Indice de la nature de la matière première.
- E : Indice de l'état physique.
- S : Indice de solubilité.
- Net : Indice de Nettoyabilité.
- T : Indice de toxicité.
- V : Indice de volatilité.

Compte tenu de leur importance, et en vue de les distinguer des autres critères, les critères, toxicité et nettoyabilité **sont pondérés** d'un coefficient de deux (02).

Les résultats sont présentés sous forme d'un tableau regroupant les critères de chaque matière première.

**Tableau XXXV : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée**

Matière première	Nature	Etat physique	Solubilité (eau)	Solubilité (alcool)	Nettoyabilité	Volatilité	Toxicité	Produit P
MP 001								
MP 002								
.....								
MP N								

**Note :**

- Au cas d'égalité des valeurs de P (plus élevée), l'hierarchie des critères est donnée comme suit ;

**Nettoyabilité > Toxicité > Solubilité > Nature > Volatilité > Etat physique**

D'après les tableaux LII et LIII de la partie résultats et discussion, **kétoprofène matière première** est choisie comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée.

**1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique**

Le choix du traceur microbiologique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée est basé sur les critères suivants :

- Limite d'acceptation.
- Présence ou absence d'une activité antimicrobienne.
- Échelle de nettoyabilité.

A chacun de ces critères est attribuée une échelle.

**A. Échelle des limites d'acceptation**

Dans cette échelle que nous proposons, nous faisons référence aux critères d'acceptation décrits dans le **tableau 5.1.4.-1 de la Pharmacopée européenne 9<sup>ème</sup> édition – Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles**, à chaque test microbiologique nous attribuons un coefficient pour le résultat obtenu.

- **DGAT** : Echelle notée de 1 à 4 en raison d'existence de 4 limites (les plus fréquentes) pour ce paramètre ( $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$  et  $10^4$ ), pour la limite inférieure on attribue le coefficient le plus bas et inversement pour la limite la plus large on attribue le coefficient le plus élevé car **une matière première peut apporter une grande charge bactérienne aux surfaces lorsque ses limites de DGAT sont très élevées**. Le tableau XXXVI présente l'échelle de la DGAT.

**Tableau XXXVI : Echelle de DGAT**

Norme de la DGAT	Coefficient attribué
$DGAT \leq 10^1$	1
$10^1 < DGAT \leq 10^2$	2
$10^2 < DGAT \leq 10^3$	3
$DGAT > 10^3$	4

- **DMLT** : Echelle notée de 1 à 3 en raison d'existence de 3 limites les plus fréquentes pour ce paramètre ( $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ), pour la limite inférieure on attribue le coefficient le plus faible et inversement pour la limite la plus large on attribue le coefficient le élevé. Le tableau XXXVII présente l'échelle de la DMLT.

**Tableau XXXVII : Echelle de DMLT**

Norme de la DMLT	Coefficient attribué
$DMLT \leq 10^1$	1
$10^1 < DMLT \leq 10^2$	2
$DMLT > 10^2$	3

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

Pour l'établissement du score final, il sera tenu compte de la somme des deux coefficients (DGAT + DMLT) pour le critère « limite d'acceptation ».

**B. Echelle de l'activité antimicrobienne :** un agent antimicrobien lutte contre la prolifération microbienne, sa présence dans une formulation d'un médicament peut inhiber la croissance des microorganismes qui se trouvent sur les surfaces de la CDP.

– Si Absence d'une activité antimicrobienne : un coefficient 2 est attribué.

– Si présence d'une activité antimicrobienne (conservateur, antibiotique ou antifongique) : un coefficient 1 est attribué.

**C. Echelle de nettoyabilité :** L'échelle de nettoyabilité dans le cadre de l'analyse microbiologique est la même que celle retenue pour la détermination du traceur physicochimique.

### D. Critères de décision

Le produit des différents indices est calculé, **le pire cas** correspond à la matière première ayant obtenu **le score le plus élevé**.

La formule de calcul utilisée s'exprime comme suit :

$$\text{Score} = (\text{indice DGAT} + \text{Indice}) \times \text{Indice de nettoyabilité} \times \text{indice de l'activité antimicrobienne}$$

Les résultats sont présentés sous forme d'un tableau regroupant les critères de chaque matière première.

Tableau XXXVIII : Choix du traceur microbiologique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée

MP	Somme des indices des Limites d'acceptation (DGAT + DMLT)	Nettoyabilité	Absence ou présence d'une activité antimicrobienne	Score
001				
002				
.....				
N				

Note : En cas d'égalité de scores entre deux ou plus de matières premières, la priorité aux critères de sélection est donnée selon l'ordre décroissant suivant ;

**Limite d'acceptation > Nettoyabilité > Présence ou non d'une activité antimicrobienne.**

## 1.2.2. Etablissement des critères d'acceptation

### 1.2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique

#### A. Approche traditionnelle

La limite d'acceptation selon l'approche traditionnelle repose sur la valeur de la DL 50. La limite la plus stricte est obtenue avec le principe actif ayant la valeur de la **DL50 la plus faible**.

$$\text{MACO}_{\mu\text{g}/\text{cm}^2} = \frac{\text{NOEL} \times F_S \times L_B \times 70 \times 1000}{T_B \times S}$$

$F_S$  : Facteur de sécurité (0,01 pour les formes topiques, 0,001 pour les formes parentérales et 0,0001 pour les collyres et les formes injectables).

$T_B$  : Dose thérapeutique (g/jour) la plus élevée des produits fabriqués dans l'entreprise.

$L_B$  : plus petite taille du lot fabriqué dans l'entreprise (exprimée en g).

$S$  : surface totale des surfaces de contamination dans la centrale de pesée.

70 : poids corporel d'un individu moyen.

NOEL : No Observed Effet Level ou dose sans effet observé de la substance contaminant (NOEL = DL50 × 0,0005) et DL50 en mg/Kg.

#### B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE

La limite d'acceptation faisant appel à l'approche PDE, repose sur l'hypothèse que la contamination maximale tolérée n'entraînant aucun effet néfaste peut-être retrouvée dans la dose journalière maximale du produit contaminé soit à une dose journalière maximale  $T_B$ .

La quantité résiduelle contaminant un lot industriel de taille  $L_B$  est calculée comme suit ;

PDE minimale →  $T_B$

$m \rightarrow L_B$

$$m = \frac{\text{PDE}_A \times L_B}{T_B}$$

$m \rightarrow S$  (surface de la centrale de pesée)

MACO  $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2 \rightarrow A_S = 100 \text{ cm}^2$

$$\text{MACO}_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{\text{PDE}_{\text{min}} \times L_B \times A_S \times 1000}{T_B \times S}$$

MACO : Maximum Allowable Carry Over exprimé en  $\mu\text{g}$  de contaminant par 100  $\text{cm}^2$  de la surface prélevée.

PDE : Permitted Daily Exposure minimal de la gamme des produits fabriqués par l'entreprise.

$L_B$  : Taille minimale du produit suivant B (exprimée en g).

$T_B$  : Dose thérapeutique journalière maximale du produit suivant B (exprimé en g).

1000 : Facteur de conversion du mg en  $\mu\text{g}$ .

### **1.2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique.**

La détermination des limites d'acceptation fait référence aux limites (spécifications en ufc) les plus strictes décrites dans les pharmacopées pour les essais pour la qualité microbiologique des produits pharmaceutiques.

### **1.2.3. Méthodes d'analyse**

#### **1.2.3.1. Méthode d'analyse physicochimique : Mise au point et validation de la méthode de dosage des traces du kétoprofène.**

Le traceur retenu en analyse physicochimique est le *kétoprofène*. Les taux résiduels tolérés dans le cadre de la validation du nettoyage de la centrale de pesée doivent être inférieurs à la limite d'acceptation (exprimée en unité de concentration).

Il en résulte que la méthode d'analyse de dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage doit être très sensible avec une limite de quantification suffisamment basse pour quantifier les taux résiduels du contaminant. Il est donc nécessaire de mettre au point une méthode analytique qui répond à cet objectif.

La présente partie consiste à établir un protocole de validation analytique de la méthode de dosage du kétoprofène à l'état de traces. Le dosage est réalisé dans les prélèvements par écouvillonnage.

**Note :** Le kétoprofène est un traceur commun pour la validation du nettoyage de la CDP, la ligne crème et gels et la ligne suppositoires. Un intérêt particulier est accordé à la validation analytique de ce principe actif en raison de la limite d'acceptation très faible de la CDP. Une fois validée, la méthode d'analyse peut être appliquée à la validation du nettoyage des deux lignes suscitées.

La validation analytique a été réalisée au sein du Laboratoire de Chimie Analytique du Département de Pharmacie de Tizi-Ouzou en collaboration avec le Laboratoire de Contrôle Qualité de Biopharm industrie, selon le guide élaboré par une commission de la SFSTP ayant décrit un protocole de validation harmonisé, publié dans la revue STP Pharma pratique en janvier 2006.

#### **A. Mise au point d'une procédure analytique**

Le kétoprofène à l'état de traces est dosé par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) à détection UV.

##### **A.1. Description de la méthode**

###### **➤ Préparation des solutions**

- **Phase mobile :** Acétonitrile /Eau/ Tampon pH = 3,5 (430 : 550 : 20).
- **Solution tampon pH 3,5 :** Peser 3,4 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) dans une fiole de 50 ml, compléter au trait de jauge avec de l'eau. Ajuster le pH à 3,5 avec de l'acide phosphorique dilué.

- **Diluant (milieu de dilution)** : Eau / Acétonitrile (60/40 Volume / Volume)
- **Solvant de récupération** : Ethanol absolu.
- **Solution standard 100%** : (concentration de kétoprofène à **0,81 µg/ml**) correspondant au MACO de la centrale de pesée exprimé en unité de concentration.

Dans une fiole de 100 ml, peser 40,5 mg du kétoprofène standard. Dissoudre dans un volume suffisant du diluant et compléter au trait de jauge avec le même solvant. Diluer cette solution au 1/500<sup>ème</sup> dans le diluant.

#### **A.2. Conditions chromatographiques :**

- Colonne : C18 : longueur =150 mm, diamètre interne = 4.6 mm, taille des particules = 5µm.
- Débit : 1.5 ml/min.
- Longueur d'onde de détection : 254 nm
- Volume d'injection : 50 µl
- Durée de l'analyse : 8 min
- Température : 30°C

### **B. Protocole de validation analytique**

#### **B.1. Choix du Protocol de validation**

Selon le logigramme de la figure 15 qui permet de sélectionner un protocole de validation et le tableau XVIII définissant les niveaux de concentrations et sachant que la procédure de dosage est connue (absence d'effet matrice), le protocole adopté dans notre étude est le **V2** en utilisant **5 niveaux de concentrations** pour les **SE** et les **SV**.

#### **B.2. Choix des paramètres de validation**

##### **➤ Domaine d'application et niveaux de concentrations**

Le choix des niveaux de concentrations pour le dosage des traces du contaminant dans le cadre de la validation du nettoyage est fait de façon à couvrir une gamme comprenant la limite d'acceptation et des niveaux supplémentaires, régulièrement espacés et positionnés au tour de cette limite.

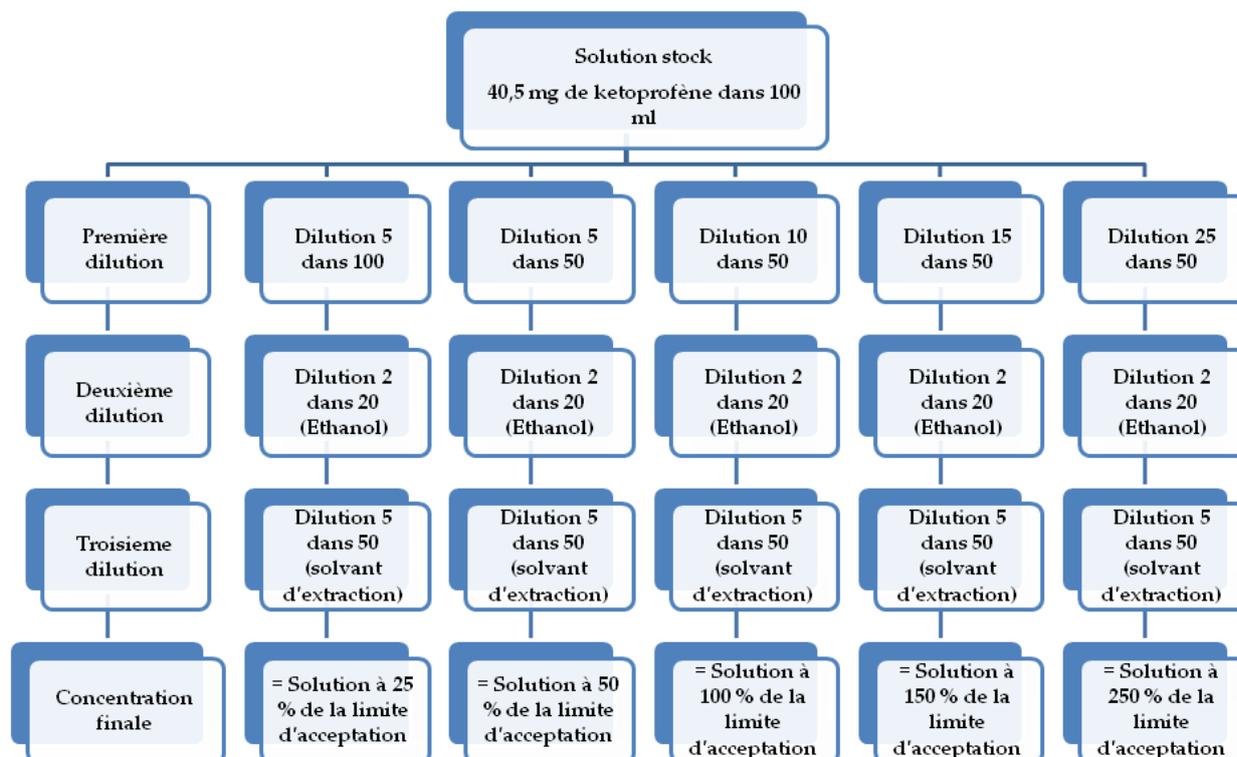
Pour le dosage du kétoprofène à l'état de traces dans le cadre de la validation du nettoyage de la centrale de pesée, la limite d'acceptation exprimée en unité de concentration est de **0,81µg/ml**. Pour la validation analytique, 5 niveaux de concentrations à savoir ; 25%, 50%, 100%, 150% et 250% de cette limite ont été définis, ce qui correspond à des concentrations de ; **0,2025 µg/ml, 0,405 µg/ml, 0,81 µg/ml, 1,215 µg/ml et 2,025 µg/ml**.

Le tableau XXXIX et la figure 17 décrivent les préparations des niveaux de concentrations pour la validation de la méthode de dosage de traces du kétoprofène.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau XXXIX : Préparation de la gamme de concentrations du kétoprofène**

Solution stock	Prise d'essai de kétoprofène : 40,5 mg dans 100 ml du diluant.					
Préparation de la gamme						
Dilutions	Préparations des niveaux	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3	Niveau 4	Niveau 5
Première dilution (dans le diluant)	Volume prélevé (ml)	5	5	10	15	25
	Volume final (ml)	100	50	50	50	50
	Concentration C1 (µg/ml)	20,25	40,5	81	121,5	202,5
Deuxième dilution (dans l'éthanol)	Volume prélevé (ml)	2	2	2	2	2
	Volume final (ml)	20	20	20	20	20
	Concentration C2 (µg/ml)	2,025	4,05	8,1	12,15	20,25
Troisième dilution (dans le diluant) = Gamme des SE	Volume prélevé (ml)	5	5	5	5	5
	Volume final (ml)	50	50	50	50	50
	Concentration C3 (µg/ml)	0,2025	0,405	0,81	1,62	3,24
Concentrations finales	% par rapport à la limite d'acceptation	25,00	50,00	100,00	150,00	250,00



**Figure 17 : Etapes de préparation de la gamme d'étalonnage du kétoprofène**

➤ **B.3. Choix des limites d'acceptabilité ( $\lambda$ )**

S'agissant d'un dosage à l'état de traces (concentrations très faibles), la limite d'acceptabilité  $\lambda$  est retenue à  $\pm 10\%$  (limite intermédiaire entre le domaine pharmaceutique et biologique).

➤ **Choix de la probabilité de confiance ( $\beta$ )**

$\beta = 90\%$ , ceci signifie que dans l'application en routine de la méthode, plus de 90% des résultats futurs seront compris dans l'intervalle d'acceptabilité  $\pm 10\%$ .

**B.3. Critères de validation ;**

**B.3.1. Spécificité :**

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

- Solvant de dilution : Eau : Acétonitrile (60 : 40)
- Le support de prélèvement : écouvillons.
- Le support à prélever : plaque en inox (pharmaceutique) de même qualité que celui avec lequel sont fabriquées les surfaces de la centrale de pesée (balances).
- La comparaison sera faite par rapport à une solution standard de kétoprofène à 100% de la limite d'acceptation.

L'interférence est étudiée en préparant et analysant les solutions suivantes ;

- **Blanc solvant** : Correspondant au diluant.
- **Blanc écouvillon** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml du diluant. Plonger les têtes de 03 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération éthanol et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes, laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Blanc plaque** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer 1 ml d'éthanol. Sécher à l'aide d'un séchoir.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser reposer pendant 1 heure à l'abri de la lumière.

- **Solution standard à 100% de la limite d'acceptation** : Dans une fiole de 100 ml, peser 40,5 mg de kétoprofène. Dissoudre dans un volume suffisant de diluant et compléter au trait de jauge avec le même solvant. Diluer cette solution au 1/500 dans le diluant.

Ces échantillons seront analysés et observés pour la présence d'interférence au même temps de rétention que celui du kétoprofène obtenue avec la solution standard 100%.

**Critères d'acceptation :**

Sur les chromatogrammes obtenus à partir du blanc solvant, blanc écouvillon et blanc plaque : absence d'un pic au temps de rétention du kétoprofène.

S'il n'existe pas d'interférence au temps de rétention de l'analyte, la méthode sera dite spécifique pour le dosage du kétoprofène.

**B.3.2. Fonction de réponse**

Dans le but de valider une méthode analytique, deux types d'échantillons ont été préparés de façon indépendante : les standards d'étalonnage et les standards de validation. Le protocole adapté est le V2.

- **Trois séries du standard d'étalonnage (SE)** : Comprenant chacune 05 niveaux de concentrations et deux répétitions par niveau. Les standards d'étalonnage sont préparés dans le diluant. Ces SE servent à **étudier les différentes fonctions de réponse** reliant la réponse instrumentale (aire du pic) à la concentration du kétoprofène.
- **Trois séries du standard de validation (SV)** : Comprenant chacune 05 niveaux de concentrations et trois répétitions par niveau. Les standards de validation sont préparés dans le diluant en présence des écouvillons. Les écouvillons ont été utilisés au préalable dans l'écouvillonnage à blanc des surfaces en inox (100 cm<sup>2</sup>) et ce, pour reconstituer la matrice de validation, puis mis en contact avec des volumes de 10 ml des standard d'étalonnage pour chaque niveau de concentration.

Le tableau XL résume la préparation des gammes standards et les valeurs de chaque concentration en µg/ml et en % par rapport à la concentration théorique de 0,81 µg/ml.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**Le tableau XL : Préparation des gammes standards**

Séries / répétitions		Série 01 répétition 01					Série 01 répétition 02					Série 01 répétition 03				
Prise d'essai (mg) dans 100 ml		41,68					41,93					41,27				
% Théorique		Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5
V prélevée en ml		5	5	10	15	25	5	5	10	15	25	5	5	10	15	25
V final en ml		100	50	50	50	50	100	50	50	50	50	100	50	50	50	50
Concentration en µg/ml	Première dilution	20,84	41,68	83,36	125,04	208,4	20,965	41,93	83,86	125,79	209,65	20,635	41,27	82,54	123,81	206,35
	Deuxième dilution	2,084	4,168	8,336	12,504	20,84	2,0965	4,193	8,386	12,579	20,965	2,0635	4,127	8,254	12,381	20,635
	Troisième dilution	0,2084	0,4168	0,8336	1,2504	2,084	0,20965	0,4193	0,8386	1,2579	2,0965	0,20635	0,4127	0,8254	1,2381	2,0635
% Réel		25,73	51,46	102,91	154,37	257,28	25,88	51,77	103,53	155,30	258,83	25,48	50,95	101,90	152,85	254,75
Séries / répétitions		Série 02 répétition 01					Série 02 répétition 02					Série 02 répétition 03				
Prise d'essai (mg) dans 100 ml		42,06					41,41					41,78				
% Théorique		Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5
V prélevée en ml		5	5	10	15	25	5	5	10	15	25	5	5	10	15	25
V final en ml		100	50	50	50	50	100	50	50	50	50	100	50	50	50	50
Concentration en µg/ml	Première dilution	21,03	42,06	84,12	126,18	210,3	20,705	41,41	82,82	124,23	207,05	20,89	41,78	83,56	125,34	208,9
	Deuxième dilution	2,103	4,206	8,412	12,618	21,03	2,0705	4,141	8,282	12,423	20,705	2,089	4,178	8,356	12,534	20,89
	Troisième dilution	0,2103	0,4206	0,8412	1,2618	2,103	0,20705	0,4141	0,8282	1,2423	2,0705	0,2089	0,4178	0,8356	1,2534	2,089
% Réel		25,96	51,93	103,85	155,78	259,63	25,56	51,12	102,25	153,37	255,62	25,79	51,58	103,16	154,74	257,90
Séries / répétitions		Série 03 répétition 01					Série 03 répétition 02					Série 03 répétition 03				
Prise d'essai (mg) dans 100 ml		41,07					40,95					40,64				
% Théorique		Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 1	Niv 2	Niv 3	Niv 4	Niv 5
V prélevée en ml		5	5	10	15	25	5	5	10	15	25	5	5	10	15	25
V final en ml		100	50	50	50	50	100	50	50	50	50	100	50	50	50	50
Concentration en µg/ml	Première dilution	20,535	41,07	82,14	123,21	205,35	20,475	40,95	81,9	122,85	204,75	20,32	40,64	81,28	121,92	203,2
	Deuxième dilution	2,0535	4,107	8,214	12,321	20,535	2,0475	4,095	8,19	12,285	20,475	2,032	4,064	8,128	12,192	20,32
	Troisième dilution	0,20535	0,4107	0,8214	1,2321	2,0535	0,20475	0,4095	0,819	1,2285	2,0475	0,2032	0,4064	0,8128	1,2192	2,032
% Réel		25,35	50,70	101,41	152,11	253,52	25,28	50,56	101,11	151,67	252,78	25,09	50,17	100,35	150,52	250,86

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

Le Tableau XLI reprend le nombre des standards d'étalonnage par niveau de concentration, les niveaux de concentrations envisagés et les différentes séries réalisées

**Tableau XLI : Nombre de standards d'étalonnage par niveau de concentration**

Solutions	Séries	Niveaux de concentrations	% de concentrations
SE 25% répétition	1	1	25,73
SE 25% répétition 2	1	1	25,88
SE 50% répétition 1	1	2	51,46
SE 50 % répétition 2	1	2	51,77
SE 100% répétition 1	1	3	102,91
SE 100 % répétition 2	1	3	103,53
SE 150% répétition 1	1	4	154,37
SE 150 % répétition 2	1	4	155,30
SE 250% répétition 1	1	5	257,28
SE 250 % répétition 2	1	5	258,83
SE 25% répétition 1	2	1	25,96
SE 25% répétition 2	2	1	25,56
SE 50% répétition 1	2	2	51,93
SE 50 % répétition 2	2	2	51,12
SE 100% répétition 1	2	3	103,85
SE 100 % répétition 2	2	3	102,25
SE 150% répétition 1	2	4	155,78
SE 150 % répétition 2	2	4	153,37
SE 250% répétition 1	2	5	259,63
SE 250 % répétition 2	2	5	255,62
SE 25% répétition 1	3	1	25,35
SE 25% répétition 2	3	1	25,28
SE 50% répétition 1	3	2	50,70
SE 50 % répétition 2	3	2	50,56
SE 100% répétition 1	3	3	101,41
SE 100 % répétition 2	3	3	101,11
SE 150% répétition 1	3	4	152,11
SE 150 % répétition 2	3	4	151,67
SE 250% répétition 1	3	5	253,52
SE 250 % répétition 2	3	5	252,78

Le Tableau XLII reprend le nombre des standards de validation par niveau de concentration, les niveaux de concentrations envisagés et les différentes séries réalisées.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau XLII : Nombre de standards de validation par niveau de concentration**

Solutions	Séries	Niveaux de concentrations	% de concentrations
SV 25% répétition 1	1	1	25,73
SV 25% répétition 2	1	1	25,88
SV 25% répétition 3	1	1	25,48
SV 50% répétition 1	1	2	51,46
SV 50 % répétition 2	1	2	51,77
SV 50 % répétition 3	1	2	50,95
SV 100% répétition 1	1	3	102,91
SV 100 % répétition 2	1	3	103,53
SV 100 % répétition 3	1	3	101,90
SV 150% répétition 1	1	4	154,37
SV 150 % répétition 2	1	4	155,30
SV 150 % répétition 3	1	4	152,85
SV 250% répétition 1	1	5	257,28
SV 250 % répétition 2	1	5	258,83
SV 250 % répétition 3	1	5	254,75
SV 25% répétition 1	2	1	25,96
SV 25% répétition 2	2	1	25,56
SV 25% répétition 3	2	1	25,79
SV 50% répétition 1	2	2	51,93
SV 50 % répétition 2	2	2	51,12
SV 50 % répétition 3	2	2	51,58
SV 100% répétition 1	2	3	103,85
SV 100 % répétition 2	2	3	102,25
SV 100 % répétition 3	2	3	103,16
SV 150% répétition 1	2	4	155,78
SV 150 % répétition 2	2	4	153,37
SV 150 % répétition 3	2	4	154,74
SV 250% répétition 1	2	5	259,63
SV 250 % répétition 2	2	5	255,62
SV 250 % répétition 3	2	5	257,90
SV 25% répétition 1	3	1	25,35
SV 25% répétition 2	3	1	25,28
SV 25% répétition 3	3	1	25,09
SV 50% répétition 1	3	2	50,70
SV 50 % répétition 2	3	2	50,56
SV 50 % répétition 3	3	2	50,17
SV 100% répétition 1	3	3	101,41
SV 100 % répétition 2	3	3	101,11
SV 100 % répétition 3	3	3	100,35
SV 150% répétition 1	3	4	152,11
SV 150 % répétition 2	3	4	151,67
SV 150 % répétition 3	3	4	150,52
SV 250% répétition 1	3	5	253,52
SV 250 % répétition 2	3	5	252,78
SV 250 % répétition 3	3	5	250,86

A partir des résultats obtenus pour l'analyse des standards d'étalonnage, les fonctions de réponse suivantes sont étudiées ;

- Fonction linéaire simple :  $y = ax + b$
- Fonction linéaire passant par 0 :  $y = ax$
- Régression linéaire après transformation racine-racine
- Régression linéaire après transformation racine-racine
- Autres fonction (quadratique, pondération  $1/x...$  etc.).

L'étude statistique et l'établissement des profils d'exactitude sont réalisés par le logiciel ENOVAL version 4.0 on line.

### **B.3.3. Etablissement du profil d'exactitude**

A partir des standards de validation et après alignement des réponses sur les valeurs moyennes de chaque niveau de concentration, les prédictions inverses sont calculées. Le biais et la justesse sont établis.

Le profil d'exactitude est obtenu en calculant l'erreur totale (absolue et relative) et l'intervalle de tolérance pour chaque niveau de concentration.

Le choix de la fonction de réponse repose sur le profil d'exactitude le plus rétréci (ayant l'intervalle de dosage le plus large), l'erreur résultant est plus faible, ce qui correspond au meilleur model.

### **B.3.4. Linéarité**

La linéarité de la méthode est démontrée en établissant une régression linéaire simple entre les concentrations estimées (prédictions inverses) et les concentrations introduites.

### **B.3.5. Robustesse**

La robustesse d'une méthode est sa capacité à rendre des résultats exacts en présence de faibles changements des conditions expérimentales susceptibles de se produire dans l'utilisation de cette technique.

Ce changement consiste en tout écart pouvant se produire pour un paramètre donné par rapport à sa valeur nominale définie dans la procédure d'analyse.

#### **• Paramètres opératoires :**

Les paramètres opératoires à considérer pour l'étude de la robustesse sont ;

- paramètre A : Teneur en principe actif de kétoprofène.
- Débit de la phase mobile, noté paramètre B.
- Longueur d'onde de détection, notée paramètre C.

La valeur nominale ainsi que les changements à apporter pour chaque paramètre sont explicités dans le tableau XLIII.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

**Tableau XLIII : Changement des paramètres pour l'étude de la robustesse**

	Paramètre A Concentration en kétoprofène en %	Paramètre B Débit de la phase mobile	Paramètre C Longueur d'onde de détection
Valeur nominale	100 %	1,5 ml/min	254 nm
Variation	± 10 %	± 0,3 ml/mn	± 2 nm
Niveau bas (-)	90%	1,2 ml/min	252 nm
Niveau haut (+)	110%	1,8 ml/min	256 nm

Les solutions à préparer pour constituer le tableau XLIII sont les suivantes ;

- **Solutions échantillons (SV) :** au nombre de 02
  - Echantillon 01 : SV 90%
  - Echantillon 02 : SV 110%
  - Une solution standard (SE) 100% pour la quantification des échantillons.

Les échantillons 01 et 02 sont analysés pour chacune des débits de la phase mobile à deux longueurs d'onde différentes ; 252 nm et 256 nm.

Le nombre d'essais par HPLC à réaliser est de 8 réparties selon le tableau XLIV.

**Tableau XLIV: Plan d'expérience pour l'étude de la robustesse du dosage de kétoprofène par HPLC**

N° de l'essai	Echantillon	Débit (ml/mn)	Longueur d'onde (nm)
Essai N° 01	Echantillon 01	1,2	252
Essai N° 02	Echantillon 02	1,2	252
Essai N° 03	Echantillon 01	1,2	256
Essai N° 04	Echantillon 02	1,2	256
Essai N° 05	Echantillon 01	1,8	252
Essai N° 06	Echantillon 02	1,8	252
Essai N° 07	Echantillon 01	1,8	256
Essai N° 08	Echantillon 02	1,8	256

Pour chaque essai, la solution standard 100% est injectée pour quantifier le kétoprofène dans la solution échantillon.

- **Calcul de l'intervalle de confiance d'un paramètre :** Pour chaque paramètre ou leurs interactions, on calcule l'intervalle de confiance donné par la formule suivante ;

$$\text{Intervalle de confiance} = \text{Effet} \pm \frac{\sigma_{\text{exp}} \times t_{\text{student}}}{\sqrt{N}}$$

$\sigma_{\text{exp}}$  : écart type expérimental des réponses expérimentales

$t_{\text{student}}$  : coefficient de Student pour une probabilité  $1-\alpha/2$  et un degré de liberté (ddl) = n- 1

Pour un plan d'expérience à 3 paramètres, N = 8 et  $t_{\text{Student}} (\alpha = 0.05 \text{ ddl}=7) = 2.365$  ;

Intervalle de confiance = Effet ± 0.836  $\sigma_{\text{exp}}$ .

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

- **Interprétation :**

- Si la valeur 0 est comprise dans l'intervalle de confiance d'un paramètre, l'effet de ce paramètre pour les variations admises est dit **non significatif** sur la réponse obtenue. La méthode sera jugée robuste pour la variation étudiée de ce paramètre.

### B.3.6. Stabilité des solutions

Dans la présente étude, la stabilité des solutions est réalisée dans les conditions suivantes : stabilité dans le passeur échantillon, stabilité à température ambiante et stabilité en température de réfrigération.

#### Protocole expérimental :

La solution 100% du standard de validation est fractionnée en **07 aliquotes** notés de 01 à 07 et injectés selon le diagramme présenté dans la figure 18.

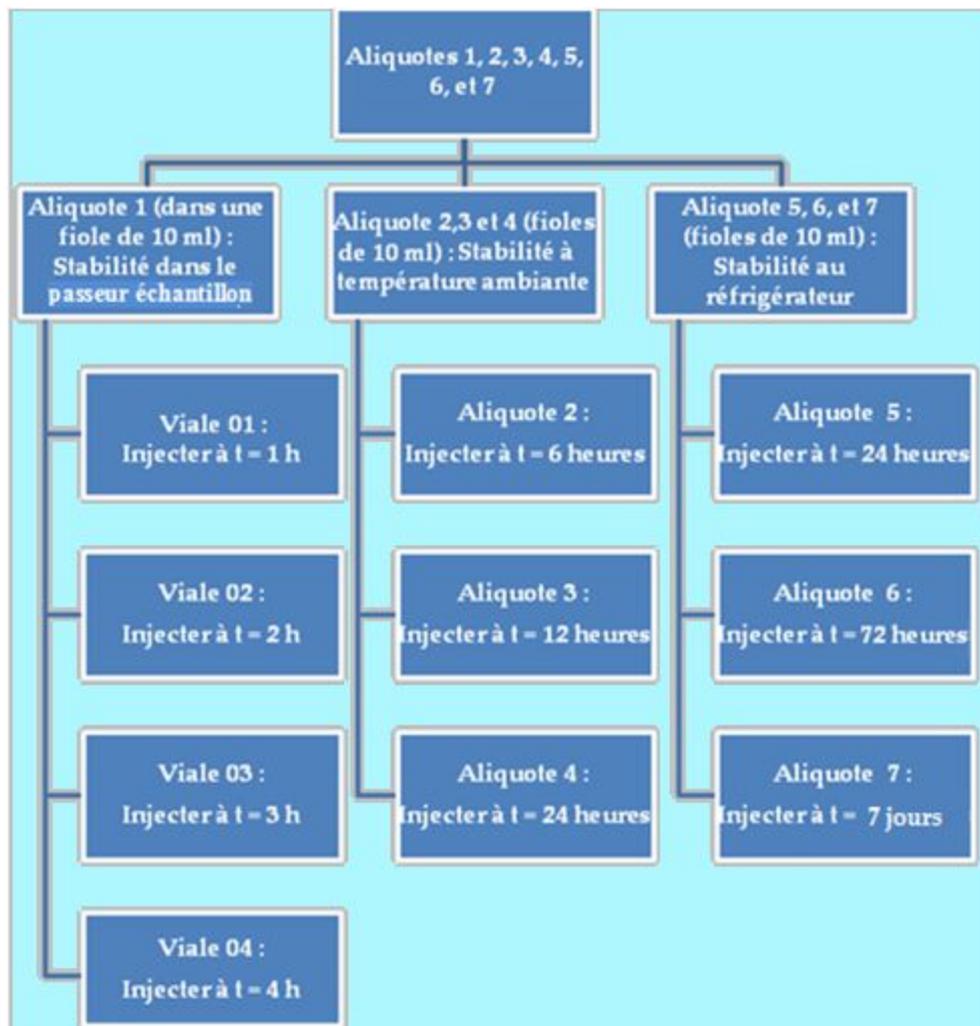


Figure 18 : Protocole d'étude de la stabilité des solutions au cours de la validation analytique du dosage de kétoprofène

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

**Note :** Les aliquotes ainsi que les viales contenant les solutions à analyser doivent être hermétiquement fermés et conservés à l'abri de la lumière (pour ne pas tenir compte de la photo-dégradation des composés étudiés).

### – Expression des résultats :

La dégradation ou l'évaporation éventuelle des solutions est évaluée par la variation de la concentration du kétoprofène. Une diminution de la concentration témoigne de la dégradation du principe actif et une augmentation de celle-ci renseigne sur une concentration des solutions par évaporation.

La comparaison sera faite par rapport à des solutions standards fraîchement préparées.

Le standard de quantification doit être préparé en double, le facteur de similarité doit être compris entre 0.990 – 1.010, cette exigence a pour but l'attribution de la différence de concentrations à la dégradation réelle des composés (ou à une évaporation des solutions) et non pas aux variations tolérées dans la préparation des solutions.

### **Note**

- La durée de stabilité dans le passeur échantillon peut varier de 4 de 24 heures, et ce en fonction de la durée d'analyse d'un principe actif. L'analyse se déroule dans le jour même, par suite, la comparaison est faite par rapport aux conditions initiales (sans préparer les standards de quantification).
- Les durées de stabilité à température ambiante et au réfrigérateur dépassent généralement 24 heures, les analyses ne sont pas réalisées dans le même jour, donc pour chaque analyse il est impératif de préparer un standard de quantification (en double).
- **Stabilité des solutions dans le passeur échantillon :** Pour chaque temps d'analyse, on définit le pourcentage de variation  $x$ , exprimé par la formule ci-dessous ;

$$x = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

**Avec ;**

$A_0$ : Aire de pic de l'analyte au temps initial.

$A_t$ : Aire de pic de l'analyte au temps  $t$

**Si  $x < 0$  : Dégradation du composé.**

**Si  $x > 0$  : Evaporation de la solution dans la vial.**

- **Stabilité des solutions à température ambiante et au réfrigérateur :** Pour ces conditions de stabilité, l'évaporation des solutions n'est pas envisageable car les fioles contenant les solutions soumises à l'étude sont hermétiquement fermées. Le pourcentage de dégradation  $D_t$  est exprimé par la formule suivante :

$$D_t = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100$$

**Avec :**  $C_0$ : Concentration de l'analyte au temps initial.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

$C_t$ : Concentration de l'analyte au temps t. Elle est calculée à partir de l'aire du pic de l'analyte au temps t, les concentrations et les aires du pic de l'analyte dans les solutions standards fraîchement préparées.

$$C_t = \frac{A_t}{2} \left( \frac{C_{STD1}}{A_{STD1}} + \frac{C_{STD2}}{A_{STD2}} \right)$$

$C_{STD1}$  et  $C_{STD2}$ : Concentration de l'analyte dans les solutions standards 1 et 2.

$A_{STD1}$  et  $A_{STD2}$ : Aire du pic de l'analyte dans les chromatogrammes obtenus à partir des solutions standards 1 et 2.

$A_t$ : Aire du pic de l'analyte dans la solution analysée à un temps t.

$C_t$ : Concentration de l'analyte dans la solution analysée à un temps t (moyenne calculée à partir de 02 standards).

➤ **Critères d'acceptation**: Les critères d'acceptation sont fixés en interne par le laboratoire de contrôle qualité.

- Pour l'étude de stabilité dans le passeur échantillon ;  $-0.02 \leq x \leq 0.02$
- Pour l'étude de stabilité à température ambiante ou au réfrigérateur la dégradation de l'analyte ne doit pas être supérieure à 5.0% soit  $D_t \leq 0.05$ .

Note :

- Dans le cas où ces critères d'acceptation ne sont pas satisfaits pour les résultats obtenus, retenir uniquement les résultats pour lesquelles les critères d'acceptation sont satisfaits et dégager les conditions de stabilité des solutions analysées.

### 1.2.1.2. Méthodes d'analyses microbiologiques

Les méthodes d'analyse microbiologiques retenues dans cette partie sont celles décrites dans la pharmacopée européenne en vigueur (9<sup>ème</sup> édition), elles sont communes pour l'étude de la validation du nettoyage de la centrale de pesée et des lignes de fabrication des médicaments.

#### A. Préparation des échantillons

Le choix de la méthode de préparation des échantillons préconisée dans la pharmacopée Européenne dépend des caractéristiques physiques du produit à examiner.

##### A.1. Produits hydrosolubles

Dissoudre ou diluer 10 g ou 10 ml de la matière à examiner (généralement une dilution au 1/10 est préparée) dans de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium à pH 7, de la solution tampon phosphate pH 7,2 ou du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja.

##### A.2. Produits de nature non lipidique insolubles dans l'eau

Mettre 10 g ou 10 ml du produit ou de la matière à examiner en suspension (généralement une dilution au 1/10 est préparée) dans de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7, de la solution tampon phosphate pH 7,2 ou du milieu liquide aux

peptones de caséine et de soja. **Un agent tensioactif tel que du polysorbate 80** peut être ajouté pour faciliter la mise en suspension des substances difficilement mouillables.

### **A.3. Produits de nature lipidique.**

Mélanger 10 g ou 10 ml du produit ou de la matière à examiner avec la quantité minimum requise de polysorbate 80 stérile ou d'un autre agent tensioactif non inhibiteur stérile, chauffer si nécessaire à une température ne dépassant pas 40 °C ou dans certains cas exceptionnels à 45 °C. Mélanger soigneusement et maintenir si nécessaire dans un bain-marie à la température voulue. Ajouter le diluant choisi, préalablement chauffé, en quantité requise pour obtenir une dilution au 1/10 du produit initial.

### **B. Dénombrement des microorganismes (DGAT et DMLT)**

Comme décrit dans la partie dénombrement microbien du titre 1.1.2.2 de la partie bibliographique, le dénombrement microbien des produits et matières premières, 02 méthodes sont essentiellement utilisées :

- Méthodes de filtration sur membrane.
- Méthodes de dénombrement sur plaque.

Le choix de la méthode est déterminé durant la validation par des facteurs tels que la nature du produit, la limite spécifiée pour le nombre de microorganismes et l'exigence de fournisseur ou le dossier pharmaceutique.

Des témoins négatifs pour vérifier les conditions opératoires et la qualité microbiologique des milieux de culture utilisés sont réalisés, un test de stérilité est vérifié pour chaque analyse.

**Témoin 01 :** Ensemencer quelques gouttes de la solution de travail stérile, (test de stérilité de la solution de travail en flacons et en tubes).

**Témoins 02 :** Dans 02 boîtes de pétri, couler la gélose avec laquelle l'analyse sera réalisée.

**Témoin 03 :** Est spécifique à la méthode par filtration, faire passer 100ml d'eau purifiée stérile à travers la membrane filtrante « test de stérilité de la rampe de filtration »).

L'obtention d'un résultat non-conforme dans l'une des boîtes de pétri utilisées comme témoins invalide le test microbiologique.

#### **Interprétation des résultats**

Les témoins négatifs sont d'abord examinés, s'il n'y a pas de croissance le test est considéré valide.

Le nombre de germes aérobies totaux (DGAT) est considéré comme égal au nombre d'ufc obtenues avec le milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja ; si des colonies de moisissures ou levures sont détectées sur ce milieu, elles sont comptabilisées dans le DGAT.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

Le nombre total de moisissures et levures (DMLT) est considéré comme égal au nombre d'ufc obtenues avec le milieu Sabouraud dextrosé-gélosé ; si des colonies de bactéries sont détectées sur ce milieu, elles sont comptabilisées dans le DMLT.

### C. Recherche des germes spécifiés

#### C.1. *Escherichia coli*

##### Préparation de l'échantillon et pré-incubation.

Préparer un échantillon comme décrit dans le paragraphe préparation de l'échantillon, ensemer une quantité égale à 90 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja avec 10 ml d'échantillon ou la quantité correspondant à 1 g ou à 1 ml de produit ou de la matière. Mélanger, puis incuber à 30-35 °C pendant 18-24 heures.

**Sélection et subculture.** Agiter le récipient, puis transférer 1 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja dans 100 ml de milieu liquide de Mac Conkey et incuber à 42-44 °C pendant 24-48 heures. Repiquer sur du **milieu gélosé de Mac Conkey** et incuber à 30-35 °C pendant 18-72 heures.

**Interprétation.** La croissance de **colonies rouges** indique la présence possible d'*Escherichia coli*, à confirmer par des essais d'identification (galerie biochimique).

#### C.2. *Pseudomonas aeruginosa*

##### Préparation de l'échantillon et pré-incubation.

Préparer un échantillon comme décrit dans le paragraphe préparation de l'échantillon. Ensemer une quantité de 90 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja avec 10 ml d'échantillon ou la quantité correspondant à 1 g ou à 1 ml de produit ou de la matière première. Mélanger et incuber à 30-35°C pendant 18-24 heures.

**Sélection et subculture.** Repiquer sur du milieu **gélosé-cétrimide** et incuber à 30-35 °C pendant 18-72 heures.

**Interprétation.** La croissance de colonies **verdâtre et aromatique** indique la présence possible de *Pseudomonas aeruginosa*, à confirmer par des essais d'identification appropriés.

#### C.3. *Candida albicans*

**Préparation de l'échantillon et pré-incubation.** Préparer le produit à examiner comme décrit dans le paragraphe préparation de l'échantillon et ensemer 90 ml du milieu liquide **Sabouraud dextrosé** avec 10 ml d'échantillon ou la quantité correspondant à 1 g ou à 1 ml de produit. Mélanger, puis incuber à 30-35 °C pendant 3-5 jours.

**Sélection et subculture.** Repiquer sur du milieu **Sabouraud dextrosé-gélosé** et incuber à 30-35 °C pendant 24-48 heures.

**Interprétation :** La croissance de **colonies blanches** indique la présence possible de *C. albicans*, à confirmer par des essais d'identification appropriés.

**1.2.4. Détermination du taux de recouvrement du kétoprofène dans les  
prélèvements par écouvillonnage**

**1.2.4.1. Principe**

La contamination des plaques en inox par des quantités connues du kétoprofène est suivie d'un prélèvement à l'aide d'écouvillons Textwipe. La détermination de la quantité du kétoprofène récupérée en analysant les prélèvements permettra de déterminer le taux de recouvrement.

**1.2.4.2. Méthode**

**Préparation des solutions :**

- **Solvant d'extraction** : Eau / Acétonitrile (60 / 40 volume/volume).
- **Solvant de récupération** : Ethanol absolu.
- **Gamme des solutions standards** :
  - **Blanc solvant** : Correspond au solvant d'extraction (le diluant).
  - **Solution stock** : Dans une fiole de 100 ml, peser 40,5 mg du kétoprofène standard, dissoudre et compléter au trait de jauge avec le diluant.

**Première dilution** : solutions mères 1.

- **Solution mère 1 à 2500 % du MACO** : Dans une fiole de 100 ml, prélever 5 ml de la solution stock. Compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Solution mère 1 à 5000 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 5 ml de la solution stock. Compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Solution mère 1 à 10000 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 10 ml de la solution stock. Compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Solution mère 1 à 15000 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 15 ml de la solution stock. Compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Solution mère 1 à 25000 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 25 ml de la solution stock. Compléter au trait de jauge avec le diluant.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

### Deuxième dilution : Solutions mères 2.

- **Solution mère 2 à 250 % du MACO** : Dans une fiole de 20 ml, prélever 2 ml de la solution mère 1 à 2500 % du MACO. Compléter au trait de jauge avec **l'éthanol absolu**.
- **Solution mère 2 à 500 % du MACO** : Dans une fiole de 20 ml, prélever 2 ml de la solution mère 1 à 5000 % du MACO. Compléter au trait de jauge avec **l'éthanol absolu**.
- **Solution mère 2 à 1000 % du MACO** : Dans une fiole de 20 ml, prélever 2 ml de la solution mère 1 à 10000 % du MACO. Compléter au trait de jauge avec **l'éthanol absolu**.
- **Solution mère 2 à 1500 % du MACO** : Dans une fiole de 20 ml, prélever 2 ml de la solution mère 1 à 15000 % du MACO. Compléter au trait de jauge avec **l'éthanol absolu**.
- **Solution mère 2 à 2500 % du MACO** : Dans une fiole de 20 ml, prélever 2 ml de la solution mère 1 à 25000 % du MACO. Compléter au trait de jauge avec **l'éthanol absolu**.

### Troisième dilution : Gamme des solutions standards (standard d'étalonnage).

- **Solution standard à 25 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 5 ml de la solution mère 2 à 250% du MACO. Compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Solution standard à 50 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 5 ml de la solution mère 2 à 500% du MACO. Compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Solution standard à 100 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 5 ml de la solution mère 2 à 1000% du MACO. Compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Solution standard à 150 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 5 ml de la solution mère 2 à 1500% du MACO. Compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Solution standard à 250 % du MACO** : Dans une fiole de 50 ml, prélever 5 ml de la solution mère 2 à 2500% du MACO. Compléter au trait de jauge avec le diluant.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

### – Contamination des écouvillons :

- **Blanc écouvillon** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de diluant. Plonger les têtes de 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes, laisser reposer pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution écouvillon à 25 % du MACO** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de la solution standard à 25 % du MACO, plonger les têtes de 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes, laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution écouvillon à 50 % du MACO** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de la solution standard à 50 % du MACO, plonger les têtes de 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes, laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution écouvillon à 100 % du MACO** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de la solution standard à 100 % du MACO, plonger les têtes de 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution écouvillon à 150 % du MACO** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de la solution standard à 150 % du MACO, plonger les têtes de 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution écouvillon à 250 % du MACO** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de la solution standard à 250 % du MACO, plonger les têtes de 3 écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.

### – Contamination des plaques

- **Blanc plaque** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer 1 ml de l'éthanol absolu. Sécher à l'aide d'un séchoir. Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution Plaque à 25% du MACO** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer sur toute la surface **1 ml** de la solution mère 2 à 250% du MACO. Sécher à l'aide d'un séchoir. Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de **10 ml de diluant**. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

- **Solution Plaque à 50% du MACO** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer sur toute la surface **1 ml** de la solution mère 2 à 500% du MACO. Sécher à l'aide d'un séchoir. Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de **10 ml de diluant**. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution Plaque à 100% du MACO** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer sur toute la surface **1 ml** de la solution mère 2 à 1000% du MACO. Sécher à l'aide d'un séchoir. Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de **10 ml de diluant**. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution Plaque à 150% du MACO** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer sur toute la surface **1 ml** de la solution mère 2 à 1500% du MACO. Sécher à l'aide d'un séchoir. Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de **10 ml de diluant**. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.
- **Solution Plaque à 250% du MACO** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer sur toute la surface **1 ml** de la solution mère 2 à 2500% du MACO. Sécher à l'aide d'un séchoir. Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 3 écouvillons dans le même tube à vis rempli de **10 ml de diluant**. Agiter au vortex pendant une minute, mettre aux ultrasons pendant 5 minutes et laisser pendant 1 heure à l'abri de la lumière.

### Calcul :

- **Rendement d'extraction** : Correspond à la quantité du kétoprofène relarguée par les écouvillons dans le diluant. **Il est calculé pour chaque niveau de concentration** à l'aide des aires du pic de kétoprofène des chromatogrammes obtenus à partir des solutions standards et des solutions écouvillons comme suit ;

$$\text{Rendement d'extraction(en\%)} = \frac{\text{Aire du pic}_{\text{Solution écouvillon}}}{\text{Aire du pic}_{\text{Solution standard}}}$$

- **Taux de recouvrement** : Correspond à la quantité du kétoprofène récupérée par les trois écouvillons. **Il est calculé pour chaque niveau de concentration** à l'aide des aires du pic de kétoprofène des chromatogrammes obtenus à partir des solutions standards et solutions plaques comme suit ;

$$\text{Taux de recouvrement (en\%)} = \frac{\text{Aire du pic}_{\text{Solution plaque}}}{\text{Aire du pic}_{\text{Solution standard}}}$$

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

### 1.2.4.3. Critères d'acceptation

Le taux de recouvrement doit être  $\geq 70\%$  (recommandation SFSTP).

- Si le coefficient de variation (RSD) pour chaque niveau de concentration est  $< 10\%$  : le taux de recouvrement correspond à la **moyenne des rendements** individuels.
- Si le coefficient de variation (RSD) pour chaque niveau de concentration est  $> 10\%$  : le taux de recouvrement le **plus faible** est retenu.

### 1.2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage

#### 1.2.5.1. Méthode de nettoyage

- Le nettoyage des balances se fait par essuyage avec l'alcool 96°.
- Le nettoyage des surfaces (paillasse, murs et parterre) se fait à l'aide d'une solution aqueuse d'un détergent à base d'un ammonium quaternaire dosé à 2% (volume/volume).

#### 1.2.5.2. Plan de prélèvements

Le choix des points de prélèvement pour l'analyse physicochimique et microbiologique est porté sur les surfaces suivantes ;

- Plateaux des balances.
- Capot de protection des balances.
- Paillasse et murs proches des balances.
- Parois interne des hottes abritant la balance.
- Plafond proche du point d'aération.
- Les points de soufflage et de reprise d'aération.

Le tableau XLV présente le plan de prélèvements de la centrale de pesée.

**Tableau XLV: Plan de prélèvements au cours de la validation du nettoyage de la centrale de pesées**

Prélèvements	Prélèvement physicochimique		Prélèvement microbiologique	
	Eau de rinçage	Ecouvillonnage	Boite de contact	Ecouvillonnage
Plateaux des balances	NA	√	NA	√
Tables (sur lesquelles sont déposées les balances)	NA	√	√	NA
Murs (proches des balances)	NA	√	√	NA
Parois internes des hottes	NA	√	√	NA
Point de soufflage	NA	√	NA	√
Points de reprise	NA	√	NA	√

NA : Non applicable

### 1.2.5.3. Critères d'acceptation

- A. **Résultats d'analyse physicochimiques** : Après pesée du kétoprofène matière première et nettoyage de la centrale de pesée, les taux résiduels dans les prélèvements par écouvillonnage doivent être inférieurs à 8,1 µg/100 cm<sup>2</sup> pour chaque point de prélèvement et ce, **à trois reprises**.
- B. **Résultats d'analyse microbiologique** : Après pesée de l'alginate de sodium matière première et nettoyage de la centrale de pesée, le nombre d'ufc par unité de surface (pour la DGAT et la DMLT) dans les prélèvements par écouvillonnage et boîtes de contact doit être inférieur à 200 ufc/100 cm<sup>2</sup> pour chaque point de prélèvement et ce, **à trois reprises (norme interne)**.

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. Choix du traceur

#### 2.1.1. Choix du traceur physicochimique

La base de données et la cotation des critères pour le choix du traceur physicochimique sont présentées dans les tableaux XLVI et XLVII.

**Les résultats obtenus donnent pour le kétoprofène le score (produit des coefficients) le plus élevé (valeur = 6144). Le kétoprofène matière première est choisie comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée.**

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

**Tableau XLVI : Critères de sélection du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée - Base de données**

N	Désignation	Forme	Nature	Solubilité dans l'eau	Solubilité dans l'alcool	Volatilité	Nettoyabilité	Toxicité DL50 chez les souris (mg/Kg)		Toxicité DL50 chez le rat (mg/Kg)		DL 50 retenue (la plus faible)
								Valeur	Réf	Valeur	Réf	
1	Acarbose	Poudre	API	Très soluble	Soluble	ND	Facile	24000	[59]	24000	[59]	24000
2	Acébutolol hydrochloride	Poudre	API	Facilement soluble	Facilement soluble	Non volatile	Facile	4050	[60]	6620	[60]	4050
3	Acétyl salicylique acide	Poudre	API	Peu soluble	Facilement soluble	Volatile	Facile	250	[61]	200	[61]	200
4	Alendronate de sodium	Poudre	API	Soluble	Très peu soluble	ND	Facile	966	[62]	552	[62]	552
5	Alginate de sodium	Poudre	API	Soluble (lentement)	Pratiquement insoluble	Volatile	Facile	/	/	> 5000	[63]	5000
6	Amlodépine bésilate	Poudre	API	Peu soluble	Assez soluble	Non volatile	Facile	37	[64]	393	[64]	37
7	Aripiprazole	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Très peu soluble	Non volatile	Facile	/	/	950	[65]	950
8	Aspartam	Poudre	EX Ef Not	Assez soluble	Peu soluble	Non volatile	Facile	>10000	[66]	>10000	[66]	10000
9	Benzalkonium chlorure	Poudre	Conserveur	Très soluble	Très soluble	Volatile	Facile	64 (SC)	[67]	240	[67]	64
10	Benzoate de sodium	Poudre	Conservateur	Facilement soluble	Assez soluble	Non volatile	Facile	1600	[68]	2100	[68]	1600
11	Benzylque alcool	Liquide	EX Ef Not	Soluble	Miscible	Non volatile	Facile	/	/	1230	[69]	1230
12	Betaméthasone	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Assez soluble	Volatile	Facile	> 4500	[70]	/	/	4500
13	Betaméthasone dipropionate	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Assez soluble	Volatile	Facile	/	/	> 4000	[71]	4000
14	Betasistestérol	Poudre	API	Peu soluble	Soluble	Volatile	Très difficile	/	/	> 2000	[72]	2000

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

15	Bicarbonate de sodium	Poudre	API	Soluble	Pratiquement insoluble	Volatile	Facile	3360	[73]	/	/	3360
16	Bisoprolol fumarate	Poudre	API	Très soluble	Facilement soluble	Non volatile	Moyenne	678	[74]	940	[74]	678
17	Caféine	Poudre	API	Assez soluble	Peu soluble	Non volatile	Facile	127	[75]	247	[75]	127
18	Calcium carbonate	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Pratiquement insoluble	Non volatile	Facile	/	/	6450	[76]	6450
19	Candesartan célixétel	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	NA	NA	> 2000	[77]	> 2000	[77]	2000
20	Carbamazépine	Poudre	API	Très peu soluble	Assez soluble	Non volatile	Facile	529	[78]	1957	[78]	529
21	Carbocisteine	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Pratiquement insoluble	Volatile	Moyenne	8400	[79]	15000	[88]	8400
22	Carbomère	Poudre	Ex	Soluble (pratique)	Soluble (pratique)	Très volatile	Facile	/	/	> 5000	[81]	5000
23	Cetylique alcool	Poudre	EX Ef Not	Pratiquement insoluble	Facilement soluble	Non volatile	Moyenne	3200	[82]	5000	[82]	3200
24	Chlorocrésol	Poudre	Conserveur	Peu soluble	Très soluble	Non volatile	Facile	600	[83]	1830	[84]	600
25	Chlorpromazine chlorhydrate	Poudre	API	Très soluble	Facilement soluble	Volatile	Difficile	135	[85]	145	[85]	135
26	Citicoline sodique	Poudre	API	Soluble (pratique)	Soluble (pratique)	Non volatile	Facile	27142	[86]	18501	[86]	18501
27	Clobétasol propionate	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Assez soluble	Non volatile	Moyenne	> 3000	[87]	> 3000	[87]	3000
28	Diclofenac de potassium	Poudre	API	Assez soluble	Soluble	Volatile	Facile	/	/	62,5	[88]	62,5
29	Diclofenac de sodium	Poudre	API	Assez soluble	Soluble	Volatile	Facile	95	[89]	53	[89]	53
30	Diclofenac diéthylamine	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Soluble (pratique)	Volatile	Difficile	200	[90]	/	/	200

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

31	Dihydroergotamine mesilate	Poudre	API	Peu soluble	Peu soluble	Volatile	Facile	>2000	[91]	>2000	[91]	2000
32	Dompéridone	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	Non volatile	Facile	/	/	5243	[92]	5243
33	Donepezil chlorhydrate	Poudre	API	Soluble	Peu soluble	Non volatile	Moyenne	45,2	[93]	32,6	[93]	32,6
34	Ethanol	Liquide	EX Ef Not	Miscible	Solvant	Volatile	Facile	3450	[94]	7060	[94]	3450
35	Ezetimibe	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Facilement soluble	ND	ND	> 5000	[95]	> 2000	[95]	2000
36	Furosémide	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Assez soluble	Volatile	Moyenne	2200	[96]	2700	[96]	2200
37	Fusidate de sodium	Poudre	API	Facilement soluble	Facilement soluble	Volatile	Facile	975	[97]	2700	[97]	975
38	Fusidique acide	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Facilement soluble	Volatile	Facile	5400	[97]	2263	[97]	2263
39	Gliclazide	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	Volatile	Moyenne	/	/	1750	[98]	1750
40	Glycérol	Liquide	EX Ef Not	Miscible	Miscible	Non volatile	Facile	4090	[99]	12600	[99]	4090
41	Haloperidol	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	Volatile	Facile	71	[100]	128	[101]	71
42	Hydrochlorothiazide	Poudre	API	Très peu soluble	Assez soluble	Volatile	Moyenne	1175	[102]	/	/	1175
43	Hydroxyanisole butyle	Poudre	Conserveur	Pratiquement insoluble	Facilement soluble	Volatile	Facile	1100	[103]	2000	[103]	1100
44	Hydroxytoluene butyle	Poudre	Conserveur	Pratiquement insoluble	Facilement soluble	Volatile	Facile	650	[104]	/	/	650
45	Irbesartan	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Assez soluble (méthanol)	Volatile	Très difficile	> 2000	[105]	> 2000	[105]	2000
46	Kétoprofene	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Facilement soluble	Volatile	Très difficile	360	[106]	62,4	[106]	62,4

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

47	Lactose	Poudre	EX Ef Not	Facilement soluble	Pratiquement insoluble	Non volatile	Facile	/	/	> 10000	[107]	10000
48	Lanoline (graisse de laine)	Semi- solide	EX Ef Not	Pratiquement insoluble	Peu soluble	Non volatile	Difficile	/	/	>16000	[108]	16000
49	Lévomenthol	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Très soluble	Non volatile	Facile	3400	[109]	3300	[109]	3300
50	Lévomépromazine Chlorhydrate	Poudre	API	Facilement soluble	Facilement soluble	Non volatile	Facile	/	/	300	[110]	380
51	Magnésium carbonate	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Pratiquement insoluble (eau)	Non volatile	Facile	>2000	[111]	/	/	2000
52	Mannitol	Liquide	EX Ef Not	Facilement soluble	Très peu soluble	Non volatile	Facile	22000	[112]	13500	[132]	13500
53	Mépipérine HCl	Poudre	API	Facilement soluble	Facilement soluble	Volatile	Difficile	/	/	1540	[113]	1540
54	Métoclopramide	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	Non volatile	Facile	280	[114]	647	[114]	270
55	Metronidazole	Poudre	API	Peu soluble	Peu soluble	Non volatile	Difficile	3800	[115]	3000	[115]	3000
56	Métronidazole benzoate	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	Non volatile	Difficile	/	/	> 2000	[116]	2000
57	Mixture herbal zecuf	Poudre	API	Soluble (pratique)	Très peu soluble (pratique)	Volatile	Facile	NA	NA	NA	NA	NA
58	Olanzapine	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	NA	NA	210	[117]	177	[117]	177
59	Omeprazole	Poudre	API	Très peu soluble	Peu soluble	NA	NA	> 4000	[118]	2210	[118]	2210
60	Paracétamol	Poudre	API	Assez soluble	Facilement soluble	Volatile	Facile	338	[119]	1944	[119]	338
61	Parahydroxybenzoate de methyle	Poudre	Conser vateur	Très peu soluble	Facilement soluble	Non volatile	Facile	8000	[120]	2100	[120]	2100
62	Parahydroxybenzoate	Poudre	Conser	Très peu	Facilement	Non	Facile	6332	[121]	/	/	6332

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

	de propyle		vateur	soluble	soluble	volatile						
63	Parahydroxybenzoate d'Ethyle	Poudre	Conser vateur	Très peu soluble	Facilement soluble	Non volatile	Facile	3000	[122]	4300	[122]	3000
64	Paroxitine chlorhydrate	Poudre	API	Peu soluble	Assez soluble	Facile	ND	374	[123]	/	/	374
65	Pheniramine maleate	Poudre	API	Très soluble	Facilement soluble	Volatile	Moyenne	268	[124]	/	/	268
66	Phénobarbital	Poudre	API	Très peu soluble	Facilement soluble	Non volatile	Facile	137	[125]	162	[125]	137
67	Phenylephrine chlorhydrate	Poudre	API	Facilement soluble	Facilement soluble	Volatile	Moyenne	120	[126]	350	[126]	120
68	Piroxicam	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	Volatile	Moyenne	250	[127]	216	[127]	216
69	Polysorbate 20	Liquide	EX Ef Not	Soluble	Soluble	Non volatile	Facile	33000	[128]	36700	[128]	33000
70	Pregabalin	Poudre	API	Soluble	Très peu soluble (Méthanol)	Volatile	Moyenne	>5000	[129]	>5000	[129]	5000
71	Propylène glycole	Liquide	EX Ef Not	Miscible	Miscible	Non volatile	Facile	23900	[130]	30000	[130]	23900
72	Pseudo ephedrine chlorhydrate	Poudre	API	Facilement soluble	Facilement soluble	Volatile	Moyenne	371	[131]	/	/	371
73	Rececadotril	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Facilement soluble (méthanol)	ND	ND	> 77 (IV)	[132]	/	/	77
74	Resorcinol	Poudre	API	Très soluble	Très soluble	Non volatile	Facile	/	/	202	[133]	202
75	Rispéridone	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Assez soluble	Volatile	Moyenne	63.1	[134]	56,6	[134]	56,6
76	Rivastigmine hydrogen tartrate	Poudre	API	Soluble	Soluble	ND	ND	/	/	13	[135]	13
77	Ruscogenines	Poudre	API	Pratiquement	Pratiquement	Non	Facile	300	[136]	/	/	300

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

				insoluble	insoluble	volatile						
78	Saccharose	Poudre	EX Ef Not	Très soluble	Peu soluble	Non volatile	Facile	/	/	29700	[137]	29700
79	Salicylique acide	Poudre	API	Peu soluble	Facilement soluble	Volatile	Facile	480	[138]	891	[139]	480
80	Sertaconazole nitrate	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Assez soluble	Volatile	Facile	8000	[140]	/	/	8000
81	Sildenafil citrate	Poudre	API	Peu soluble	Peu soluble	Volatile	Facile	> 1000	[141]	500	[141]	500
82	Silice colloïdale	Poudre	EX Ef Not	Pratiquement insoluble	Pratiquement insoluble	Très volatile	Moyenne	/	/	>10000	[142]	10000
83	Sorbate de potassium	Poudre	Conser vateur	Très soluble	Peu soluble	Volatile	Facile	/	/	3200	[143]	3200
84	Sorbitol	Liquide	EX Ef Not	Très soluble	Pratiquement insoluble	Non volatile	Facile	17800	[144]	15900	[144]	15900
85	Spiramycine	Poudre	API	Peu soluble	Facilement soluble	Volatile	Difficile	2900	[145]	3550	[146]	2900
86	Terbinafine chlorhydrate	Poudre	API	Peu soluble	Facilement soluble	Volatile	Moyenne	/	/	> 2000	[147]	2000
87	Tétrazepam	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Soluble	Volatile	Moyenne	2000	[148]	/	/	2000
88	Tramadol chlorhydrate	Poudre	API	Facilement soluble	Facilement soluble	Non volatile	Facile	270	[149]	228	[149]	228
80	Trimebutine maleate	Poudre	API	Pratiquement insoluble	Peu soluble	Non volatile	Facile	3230	[150]	> 5000	[150]	3230
90	Trimipramine maléate	Poudre	API	Peu soluble	Peu soluble	Non volatile	Facile	425	[151]	800	[152]	425
91	Vératrole	Poudre	API	Peu soluble	Soluble (pratique)	Non volatile	Facile	700	[153]	/	/	700

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

**Tableau XLVII : Critères de sélection du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée – Cotation des critères**

N	Désignation	Forme	Nature	Solubilité dans l'eau	Solubilité dans l'alcool	Volatilité	Nettoyabilité	Toxicité	Score
1	Acarbose	3	4	1	1	2	3	1	576
2	Acebutolol hydrochloride	3	4	1	1	1	1	3	288
3	Acétyl salicylique acide	3	4	2	1	2	1	4	1152
4	Alendronate de sodium	3	4	1	3	2	3	3	3456
5	Alginat de sodium	3	4	1	3	2	1	2	768
6	Amlodépine bésilate	3	4	2	2	1	1	5	960
7	Aripiprazole	3	4	3	3	2	1	3	1728
8	Aspartam	3	2	2	2	1	1	2	192
9	Benzalkonium chlorure	3	3	1	1	2	1	4	576
10	Benzoate de sodium	3	3	1	2	1	1	3	324
11	Benzylique alcool	1	2	1	1	1	1	3	48
12	Betaméthasone	3	4	3	2	2	1	3	1440
13	Betaméthasone dipropionate	3	4	3	2	2	1	3	1440
14	Betasistestérol	3	4	3	1	2	4	3	4608
15	Bicarbonate de sodium	3	4	1	3	2	1	3	1152
16	Bisoprolol fumarate	3	4	1	1	1	2	3	576
17	Caféine	3	4	2	2	1	1	4	768
18	Calcium carbonate	3	4	3	3	1	1	2	576
19	Candesartan célixétil	3	4	3	2	1	1	3	720
20	Carbamazépine	3	4	3	2	1	1	3	720
21	Carbocisteine	3	4	3	3	2	2	2	2304

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

22	Carbomère	3	1	1	1	3	1	2	144
23	Cetylique alcool	3	2	3	1	1	2	3	576
24	Chlorocrésol	3	3	2	1	1	1	3	324
25	Chlorpromazine chlorhydrate	3	4	1	1	2	3	4	2304
26	Citicoline sodique	3	4	1	1	1	1	1	96
27	Clobétasol propionate	3	4	3	2	1	2	3	1440
28	Diclofenac de potassium	3	4	2	1	2	3	4	3456
29	Diclofenac de sodium	3	4	2	1	2	1	4	1152
30	Diclofenac diéthylamine	3	4	3	1	2	3	4	4608
31	Dihydroergotamine mesilate	3	4	2	2	2	1	3	1152
32	Dompéridone	3	4	3	2	1	1	2	480
33	Donepezil chlorhydrate	3	4	1	2	1	2	5	1440
34	Ethanol	1	2	1	1	2	1	4	128
35	Ezetimibe	3	4	3	1	2	3	3	3456
36	Furosémide	3	4	3	2	2	2	3	2880
37	Fusidate de sodium	3	4	1	1	2	1	3	576
38	Fusidique acide	3	4	3	1	2	1	3	1152
39	Gliclazide	3	4	3	2	2	2	3	2880
40	Glycérol	1	2	1	1	1	1	3	48
41	Haloperidol	3	4	3	2	2	1	4	1920
42	Hydrochlorothiazide	3	4	3	2	2	2	3	2880
43	Hydroxyanisole butyle	3	3	3	1	2	1	3	864
44	Hydroxytoluene butyle	3	3	3	1	2	1	3	864
45	Irbesartan	3	4	3	2	2	4	3	5760
46	<b>Kétoprofène</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>6144</b>

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

47	Lactose	3	2	1	3	1	1	2	192
48	Lanoline (graisse de laine)	2	2	3	2	1	3	1	240
49	Lévomenthol	3	4	3	1	1	1	3	576
50	Lévomépromazine Chlorhydrate	3	4	1	1	1	1	4	384
51	Magnésium carbonate	3	4	3	3	1	1	3	864
52	Mannitol	1	2	1	3	1	1	2	64
53	Mépivérine HCl	3	4	1	1	2	2	3	1152
54	Métoclopramide	3	4	3	2	1	1	4	960
55	Metronidazole	3	4	2	2	1	3	3	1728
56	Métronidazole benzoate	3	4	3	2	1	3	3	2160
57	Mixture herbal zecuf	3	4	1	3	2	1	1	384
58	Olanzapine	3	4	3	2	1	1	1	240
59	Omeprazole	3	4	3	2	1	1	1	240
60	Paracétamol	3	4	2	1	2	1	4	1152
61	Parahydroxybenzoate de methyle	3	3	3	1	1	1	3	432
62	Parahydroxybenzoate de propyle	3	3	3	1	1	1	2	288
63	Parahydroxybenzoate d'Ethyle	3	3	3	1	1	1	3	432
64	Paroxitine chlorhydrate	3	4	2	2	2	3	4	4608
65	Pheniramine maleate	3	4	1	1	2	2	4	1536
66	Phénobarbital	3	4	3	1	1	1	4	768
67	Phenylephrine chlorhydrate	3	4	1	1	2	2	4	1536
68	Piroxicam	3	4	3	2	2	2	4	3840

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

69	Polysorbate 20	1	2	1	1	1	1	1	16
70	Pregabalin	3	4	1	3	2	2	2	1536
71	Propylene glycole	1	2	1	1	1	1	1	16
72	Pseudo ephedrine chlorhydrate	3	4	1	1	2	2	4	1536
73	Rececadotril	3	4	2	1	2	3	4	3456
74	Resorcinol	3	4	1	1	1	1	4	384
75	Rispéridone	3	4	3	2	2	2	4	3840
76	Rivastigmine hydrogen tartrate	3	4	1	1	2	3	5	2880
77	Ruscogenines	3	4	2	2	1	1	4	768
78	Saccharose	3	2	1	2	1	1	1	72
79	Salicylique acide	3	4	2	1	2	1	4	1152
80	Sertaconazole nitrate	3	4	3	2	2	1	2	960
81	Sildenafil citrate	3	4	2	2	2	1	3	1152
82	Silice colloïdale	3	2	3	3	3	2	2	1728
83	Sorbate de potassium	3	3	1	2	2	1	3	648
84	Sorbitol	1	2	1	3	1	1	1	32
85	Spiramycine	3	4	2	1	2	3	3	2592
86	Terbinafine chlorhydrate	3	4	2	1	2	2	3	1728
87	Tetrazepam	3	4	3	1	2	2	3	2304
88	Tramadol chlorhydrate	3	4	1	1	1	1	4	384
80	Trimebutine maleate	3	4	3	2	1	1	3	720
90	Trimipramine maléate	3	4	2	2	1	1	4	768
91	Vératrole	3	4	2	1	1	1	3	432

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

### 2.1.1. Choix du traceur microbiologique

La base de données et la cotation des critères pour le choix du traceur microbiologique sont présentées dans les tableaux XLVIII et XLIX.

Les résultats obtenus donnent pour l'**alginate de sodium** le score le plus élevé (valeur = 30). L'alginate de sodium matière première est choisie comme traceur microbiologique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée.

**Tableau XLVIII : Critères de sélection du traceur microbiologique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée - Base de données**

N	Désignation	Contrôle microbiologique	DGAT	DMLT	Nettoyabilité	Effet conservateur
1	Acarbose	NON	NA	NA	Difficile	Non
2	Acébutolol hydrochloride	NON	NA	NA	Facile	Non
3	Acetyl salicylique acide	NON	NA	NA	Facile	Non
4	Alcool cetylique	OUI	10	10	Facile	OUI
5	Alendronate de sodium	NON	NA	NA	Difficile	Non
6	Alginate de sodium	OUI	1000	100	Facile	Non
8	Amidon de blé	OUI	1000	100	Facile	Non
9	Amidon de maïs	OUI	1000	100	Facile	Non
10	Amidon de maïs pré-gélatiné	OUI	1000	100	Facile	Non
11	Amidon de pomme de terre pré-gélatiné	OUI	1000	100	Facile	Non
12	Amidon de riz	OUI	1000	100	Facile	Non
13	Amlodépine bésilate	NON	NA	NA	Facile	Non
14	Aripiprazole	NON	NA	NA	Facile	Non
15	Arome caramel	OUI	1000	200	Facile	Non
16	Aspartam	NON	NA	NA	Facile	Non
17	Benzalkonium chlorure	NON	NA	NA	Facile	OUI
18	Benzoate de sodium	NON	NA	NA	Facile	OUI
19	Benzylque alcool	NON	NA	NA	Facile	OUI
20	Betaméthasone base	NON	NA	NA	Facile	Non
21	Betaméthasone dipropionate	NON	NA	NA	Facile	Non
22	Betasistesterol	NON	NA	NA	Moyenne	Non
23	Bicarbonate de sodium	NON	NA	NA	Facile	OUI*
24	Bisoprolol fumarate	NON	NA	NA	Moyenne	Non
25	Caféine	NON	NA	NA	Facile	Non
26	Calcium carbonate	NON	NA	NA	Facile	Non
27	Candesartan célixetil	NON	NA	NA	NA	Non
28	Capsule gélatine lomac	OUI	500		Facile	Non
29	Carbamazépine	NON	NA	NA	Facile	Non
30	Carbocisteine	NON	NA	NA	Moyenne	Non

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

31	Carbomères	NON	NA	NA	Facile	Non
32	Cellulose microcristalline	OUI	1000	100	Facile	Non
33	Cellulose microcristalline et CMC sodique	OUI	1000	100	Facile	Non
34	Cétomacrogol	OUI	100	100	Facile	Non
35	Cétylique alcool	NON	NA	NA	Moyenne	OUI
36	Chlorocrésol	NON	NA	NA	Facile	Non
37	Chlorpromazine chlorhydrate	NON	NA	NA	Difficile	Non
38	Citicoline sodique	NON	NA	NA	Facile	Non
39	Clobétasol propionate	NON	NA	NA	Moyenne	Non
40	CMC sodique	OUI	NA	NA	Facile	Non
41	Colorant caramel	OUI	1000	100	Facile	Non
42	Colorant glucosique	OUI	100	100	Facile	Non
43	Croscaramellose sodique	OUI	1000	100	Facile	Non
44	Cysti stop (vrac)	OUI	500000	50000	Facile	Non
45	Diclofenac de potassium	NON	NA	NA	Difficile	Non
46	Diclofenac de sodium	NON	NA	NA	Facile	Non
47	Diclofenac diéthylamine	NON	NA	NA	Difficile	Non
48	Dihydroergotamine mésilate	OUI	1000	100	Facile	Non
49	Domperidone	NON	NA	NA	Facile	Non
50	Donepezil chlorhydrate	NON	NA	NA	Moyenne	Non
51	Dromax granule	OUI	1000	100	Facile	Non
52	Duspatalin granule	OUI	1000	100	Facile	Non
53	Ethanol	NON	NA	NA	Facile	OUI
54	Eudragit	OUI	1000	100	Facile	Non
55	Extrait avyle adried	OUI	10000	100	Facile	Non
56	Extrait herbal ready	OUI	100	10	Facile	Non
57	Fusidate de sodium	OUI	100	NA	Facile	OUI**
58	Fusidique acide	OUI	100	NA	Facile	OUI**
59	Gélatine	OUI	1000	100	Facile	Non
60	Gliclazide	NON	NA	NA	Moyenne	Non
61	Glycérol	NON	NA	NA	Facile	Non
62	gomme de xanthane	OUI	1000	100	Facile	Non
63	Graisse de laine	OUI	100	10	Difficile	Non
64	Granule Atacand	OUI	1000	100	Facile	Non
65	Granule hytacand	OUI	1000	100	Facile	Non
66	Haloperidol	NON	NA	NA	Facile	Non
67	HPMC (Hypromellose)	OUI	1000	100	Facile	Non
68	Hydrochlorothiazide	NON	NA	NA	Moyenne	Non
69	Hydroxyanisole butyle	NON	NA	NA	Facile	OUI
70	Hydroxytoluene butyle	NON	NA	NA	Facile	OUI

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

71	Ibuprofene	NON	NA	NA	Difficile	Non
72	Irbesartan	NON	NA	NA	Très difficile	Non
73	Iso valérianique acide	OUI	500	50	Facile	Non
74	Ispagula husk	OUI	100000	10000	Facile	Non
75	Kétoprofène	NON	NA	NA	Très difficile	Non
76	Lactose	NON	NA	NA	Facile	Non
77	Lactose anhydre	OUI	100	NA	Facile	Non
78	Lactose monohydrate	OUI	100	50	Facile	Non
79	Lanoline (graisse de laine)	NON	NA	NA	Difficile	Non
80	Lévomenthol	NON	NA	NA	Facile	Non
81	Levomépromazine chlorhydrate	NON	NA	NA	Facile	Non
82	Magnésium carbonate	NON	NA	NA	Facile	Non
83	Maltodextrine	OUI	1000	100	Facile	Non
84	Mannitol	OUI	1000	100	Facile	Non
85	Mepiverine HCl	NON	NA	NA	Moyenne	Non
86	Metoclopramide	NON	NA	NA	Facile	Non
87	Metronidazole	NON	NA	NA	Difficile	Non
88	Metronidazole benzoate	NON	NA	NA	Difficile	Non
89	Mexture herbal	OUI	500	100	Facile	Non
90	Miconazol	NON	NA	NA	Moyenne	Non
91	Microgranule lomac	OUI	1000	100	Facile	Non
92	Mixture herbal zecuf	NON	NA	NA	Facile	Non
93	NAAGA de magnésium	OUI	300	100	Facile	Non
94	NAAGA de sodium	OUI	100	100	Facile	Non
95	Olanzapine	NON	NA	NA	NA	Non
96	Oméprazole	NON	NA	NA	NA	Non
97	Opadry white	OUI	1000	100	Facile	Non
98	Paracetamol	NON	NA	NA	Facile	Non
99	Paraffine liquide	OUI	10	NA	Facile	Non
100	Paraffine mole blanche	OUI	10	NA	Moyenne	Non
101	Parahydroxybenzoate de methyle	NON	NA	NA	Facile	OUI
102	Parahydroxybenzoate de propyle	NON	NA	NA	Facile	OUI
103	Parahydroxybenzoate d'ethyle	NON	NA	NA	Facile	OUI
104	Paroxitine chlorhydrate	NON	NA	NA	Difficile	Non
105	Pheniramine maleate	NON	NA	NA	Moyenne	Non
106	Phenobarbital	OUI	1000	100	Facile	Non
107	Phenylephrine chlorhydrate	NON	NA	NA	Moyenne	Non
108	Piroxicam	NON	NA	NA	Moyenne	Non
109	Polysorbate 20	NON	NA	NA	Facile	Non

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

110	Poudre de l'arome mandarine	OUI	50000	100	Facile	Non
111	Povidone k30	OUI	1000	100	Facile	Non
112	Pregabalin	NON	NA	NA	Moyenne	Non
113	Propylene glycole	NON	NA	NA	Facile	Non
114	Pseudo ephedrine chlorhydrate	NON	NA	NA	Moyenne	Non
115	Rececadotril	NON	NA	NA	Difficile	Non
116	Résorcinol	NON	NA	NA	Facile	Non
117	Risperidone	NON	NA	NA	Moyenne	Non
118	Rivastigmine hydrogen tartrate	NON	NA	NA	Difficile	Non
119	Ruscogenines	OUI	1000	100	Facile	Non
120	Saccharine sodique	OUI	1000	100	Facile	Non
121	Saccharose	NON	NA	NA	Facile	Non
122	Salicylique acide	NON	NA	NA	Facile	Non
123	Sepifilm	OUI	1000	100	Facile	Non
124	Sertaconazole nitrate	NON	NA	NA	Facile	Non
125	Sildenafil citrate	NON	NA	NA	Facile	Non
126	Silicate d'aluminium et de magnesium	OUI	1000	100	Facile	Non
127	Silice colloïdale	NON	NA	NA	Moyenne	Non
128	Solution de saccharose	OUI	100	10	Facile	Non
129	Sorbate de potassium	NON	NA	NA	Facile	OUI
130	sorbitol loquide	OUI	100	10	Facile	Non
131	sorbitol poudre	OUI	1000	100	Facile	Non
132	Spiramycine	NON	NA	NA	Facile	OUI**
133	stéarate de magnésium	OUI	1000	100	Facile	Non
134	Tabletose	OUI	100	NA	Facile	Non
135	Talc	OUI	1000	100	Facile	Non
136	Terbinafine chlorhydrate	NON	NA	NA	Moyenne	OUI*
137	Tetrazepam	NON	NA	NA	Moyenne	Non
138	Tramadol chlorhydrate	NON	NA	NA	Facile	Non
139	Trimebutine maleate	NON	NA	NA	Facile	Non
140	Trimipramine maleate	NON	NA	NA	Facile	Non
141	Trimipramine mesilate	NON	NA	NA	Facile	Non
142	Vanilline	OUI	1000	100	Facile	Non
143	Veratrole	NON	NA	NA	Facile	Non
144	Zolify granule	OUI	1000	100	Facile	Non

**Note :** Les valeurs limites de DGAT et DMLT sont décrites dans les procédures d'analyse des matières premières.

NA : Non Applicable.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

OUI : signifie que les matières premières en question sont concernées par l'analyse microbiologique d'après leurs monographies.

Seules ces matières seront considérées dans la cotation des critères en vue de sélection du traceur microbiologique.

NON : Signifie que ces matières premières ne sont pas concernées par l'analyse microbiologique d'après leurs monographies (pharmacopée, dossier fournisseur).

**Tableau XLIX : Critères de sélection du traceur microbiologique pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée – Cotation des critères**

Désignation	DGAT	DMLT	Nettoyabilité	Effet conservateur	Score
Alcool cétylique	1	1	1	1	2
Alginate de sodium	3	2	3	2	30
Amidon de blé	3	2	1	2	10
Amidon de maïs	3	2	1	2	10
Amidon de maïs pré-gélatine	3	2	1	2	10
Amidon de pomme de terre pré-gélatine	3	2	1	2	10
Amidon de riz	3	2	1	2	10
Arôme caramel	3	3	1	2	12
Capsule gélatine Lomac	3		1	2	6
Cellulose microcristalline (CMC)	3	2	1	2	10
CMC et CMC sodique	3	2	1	2	10
Cetomacrogol	2	2	1	2	8
Colorant caramel	3	2	1	2	10
Colorant glucosique	2	2	1	2	8
Croscaramellose sodique	3	2	1	2	10
Cysti stop (Vrac)	4	3	1	2	14
Dihydroergotamine mesilate	3	2	1	2	10
Dromax (granulé)	3	2	1	2	10
Duspatalin (granulé)	3	2	1	2	10
Eudragit	3	2	1	2	10
Extrait Leavy dried	4	2	1	2	12
Extrait herbal ready	2	1	1	2	6
Fusidate de sodium	2	NA	1	1	2
Fusidique acide	2	NA	1	1	2
Gélatine	3	2	1	2	10
Gomme xanthane	3	2	1	2	10
Graisse de laine	2	1	3	3	27
Granulé Atacant	3	2	1	2	10
Granulé Hytacand	3	2	1	2	10
HPMC (Hypromellose)	3	2	1	2	10
Iso valerianique	3	2	1	2	10
Ispaghula husk	4	3	1	2	14
Lactose anhydre	2	NA	1	2	4

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

Lactose monohydraté	2	2	1	2	8
Maltodextrine	3	2	1	2	10
Mannitol	3	2	1	2	10
Mixture herbal	3	2	1	2	10
Microgranulé LOMAC	3	2	1	2	10
NAAGA de magnésium	3	2	1	2	10
NAAGA de sodium	2	2	1	2	8
Opadray white	3	2	1	2	10
Paraffine liquide	1	NA	1	2	2
Paraffine mole blanche	1	NA	2	2	4
Phenobarbital	3	2	1	2	10
Poudre de l'arôme mandarine	4	2	1	2	12
Povidone K3	3	2	1	2	10
Ruscogenines	3	2	1	2	10
Saccharine sodique	3	2	1	2	10
Sepifilm	3	2	1	2	10
Silicate d'aluminium et de magnésium	3	2	1	2	10
Solution de saccharose	2	1	1	2	6
Sorbitol liquide	2	1	1	2	6
Sorbitol poudre	3	2	1	2	10
Stéarate de magnésium	3	2	1	2	10
Tabtellose	2	NA	1	2	4
Talc	3	2	1	2	10
Vanniline	3	2	1	2	10
Zolify (granulé)	3	2	1	2	10

**2.2. Etablissement des critères d'acceptation**

**2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique**

**2.2.1.1. Approche traditionnelle**

Parmi les matières premières faisant objet de l'étude, la **Rivastigmine hydrogen tartrate** possède la DL50 la plus faible, elle est égale à **13 mg/Kg chez le rat**. La limite d'acceptation la plus stricte est obtenue pour cette valeur.

$$MACO_{\mu g/cm^2} = \frac{DL50 \times 0,0005 \times F_S \times L_B \times 70 \times 1000}{T_B \times S}$$

Avec ;

F<sub>S</sub> : Facteur de sécurité = 0,001 (formes parentérales).

T<sub>B</sub> : Dose thérapeutique (mg/jour) la plus élevée correspondant au paracétamol soit 3 g/jour.

L<sub>B</sub> : plus petite taille du lot fabriqué dans l'entreprise (L<sub>B</sub> = 80 Kg = 80000 g).

S : surface totale des surfaces de contamination dans la centrale de pesée = 15 m<sup>2</sup> = 150000 cm<sup>2</sup>

$$MACO = \frac{13 \times 0,0005 \times 0,001 \times 80000 \times 70 \times 1000}{3 \times 150000} = 0,081 \mu g/cm^2$$

$$MACO = 8,1 \mu g/100 cm^2$$

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

Etant donné que cette quantité résiduelle est extraite par 10 ml du solvant d'extraction. La limite d'acceptation exprimée en unité de concentration est égale à  $(8,1/10) \mu\text{g/ml} = 0,81 \mu\text{g/ml}$ .

$$\text{MACO} = 0,81 \mu\text{g/ml}$$

### 2.2.1.2. Nouvelle approche basée sur la valeur de PDE

Dans le cas de la gamme des matières premières faisant objet de l'étude, la substance ayant la PDE la plus faible est la **risperidone** avec une valeur de **0,0013 mg/jour**.

La limite d'acceptation calculée à l'aide de cette valeur correspond à ;

$$\text{MACO}_{\mu\text{g}/100\text{cm}^2} = \frac{0,0013 \times 80\,000 \times 0,01 \times 1000}{3 \times 15} = 23,1 \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

### 2.2.1.3. Comparaison entre les valeurs obtenues avec les deux approches

La limite d'acceptation obtenue avec l'approche traditionnelle est plus faible que celle obtenue avec la nouvelle approche basée sur le calcul de la PDE.

**Il en résulte que dans le présent travail et en vue d'établir des limites plus strictes, la valeur retenue pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée est celle calculée à partir de l'approche traditionnelle.**

**La limite d'acceptation pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée en vue de l'analyse physicochimique est de  $8,1 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$  correspondant à  $0,81 \mu\text{g/ml}$  (exprimée en unité de concentration).**

### 2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique

Le dénombrement microbien DGAT et DMLT doit répondre aux normes suivantes (limites internes) ;

- Prélèvement par écouvillonnage : **DGAT + DMLT < 200 ufc/100 cm<sup>2</sup>**

Pour la recherche des germes spécifiés : deux germes sont concernés, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Aucune colonie ne doit être retrouvée dans les prélèvements.

### 2.3. Résultats de la validation analytique du dosage de kétoprofène à l'état de traces

Le kétoprofène est un traceur physicochimique commun pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée, de la ligne de fabrication des formes crèmes, gels, pommades et de la ligne de fabrication des suppositoires.

Etant donnée que la limite d'acceptation est très faible pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée ( $8,1 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$  comparativement à  $14,7 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$  de la ligne crèmes et gels et  $250 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$  de la ligne suppositoire). La méthode de dosage du kétoprofène ainsi validée est applicable pour la validation du nettoyage de la CDP et des lignes suscitées.

**Les données brutes de la validation sont présentées dans l'annexe I du manuscrit.**

### 2.3.1. Spécificité

Les chromatogrammes obtenus à partir des solutions : blanc solvant, blanc écouvillon, blanc plaque et standard d'étalonnage 100% sont présentés dans la figure 19.

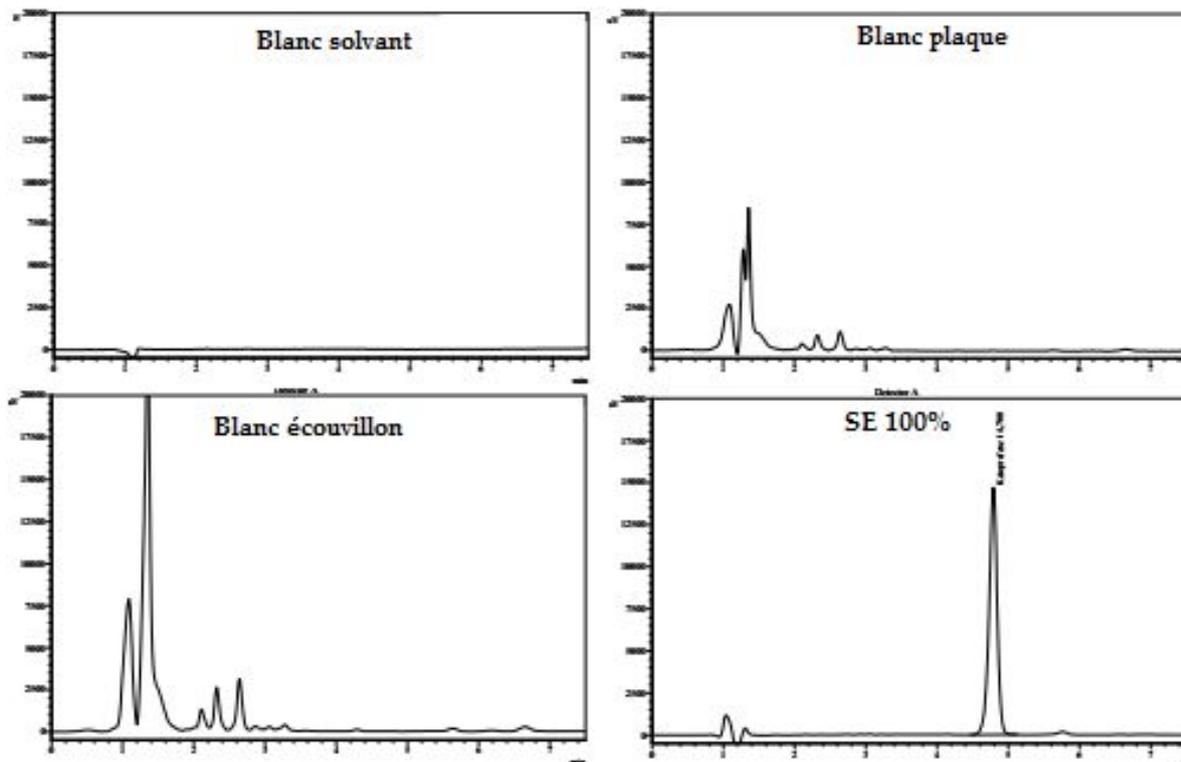


Figure 19 : Chromatogrammes du paramètre spécificité

#### Discussion :

- Sur le chromatogramme obtenu à partir de la solution standard, **présence d'un pic du kétoprofène** à un temps de rétention de 4,78 mn.
- Sur les chromatogrammes obtenus à partir des solutions blanc solvant, blanc écouvillon et blanc plaque, **absence du pic de kétoprofène** à un temps de rétention de 4,78 mn. Ce qui témoigne de l'absence d'interférence des écouvillons et des plaques dans le dosage du kétoprofène par HPLC.

**La méthode est jugée spécifique.**

### 2.3.2. Fonction réponse

Les aires du pic de kétoprofène obtenus pour chacune des solutions analysées (SE et SV) sont présentées dans le tableau L.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau L : Aires de pic du kétoprofène obtenus à partir des SE et SV**

Standards d'étalonnage (SE)							
Niveaux de concentration	Répétitions	Série 01		Série 02		Série 03	
		Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène
1	1	25,73	30115	25,96	31214	25,35	28869
	2	25,88	30950	25,56	29408	25,28	28890
2	1	51,46	56684	51,93	54844	50,70	55814
	2	51,77	56246	51,12	55699	50,56	54700
3	1	102,91	106212	103,85	106595	101,41	106675
	2	103,53	106934	102,25	105658	101,11	107521
4	1	154,37	159463	155,78	156674	152,11	161558
	2	155,30	163189	153,37	160339	151,67	159445
5	1	257,28	268574	259,63	267325	253,52	268931
	2	258,83	267365	255,62	266269	252,78	267938
Standards de validation (SV)							
Niveaux de concentration	Répétitions	Série 01		Série 02		Série 03	
		Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène
1	1	25,73	28405	25,96	30412	25,35	28811
	2	25,88	28888	25,56	28659	25,28	28436
	3	25,48	28554	25,79	29104	25,09	27188
2	1	51,46	52898	51,93	54789	50,70	53457
	2	51,77	53086	51,12	53815	50,56	53086
	3	50,95	53457	51,58	54212	50,17	52898
3	1	102,91	108298	103,85	102213	101,41	103479
	2	103,53	103778	102,25	102888	101,11	102059
	3	101,90	100034	103,16	104746	100,35	101910
4	1	154,37	161738	155,78	155213	152,11	150742
	2	155,30	155029	153,37	153371	151,67	151582
	3	152,85	150457	154,74	153828	150,52	149255
5	1	257,28	253396	259,63	268976	253,52	251596
	2	258,83	251403	255,62	260396	252,78	252603
	3	254,75	244857	257,90	252633	250,86	262208

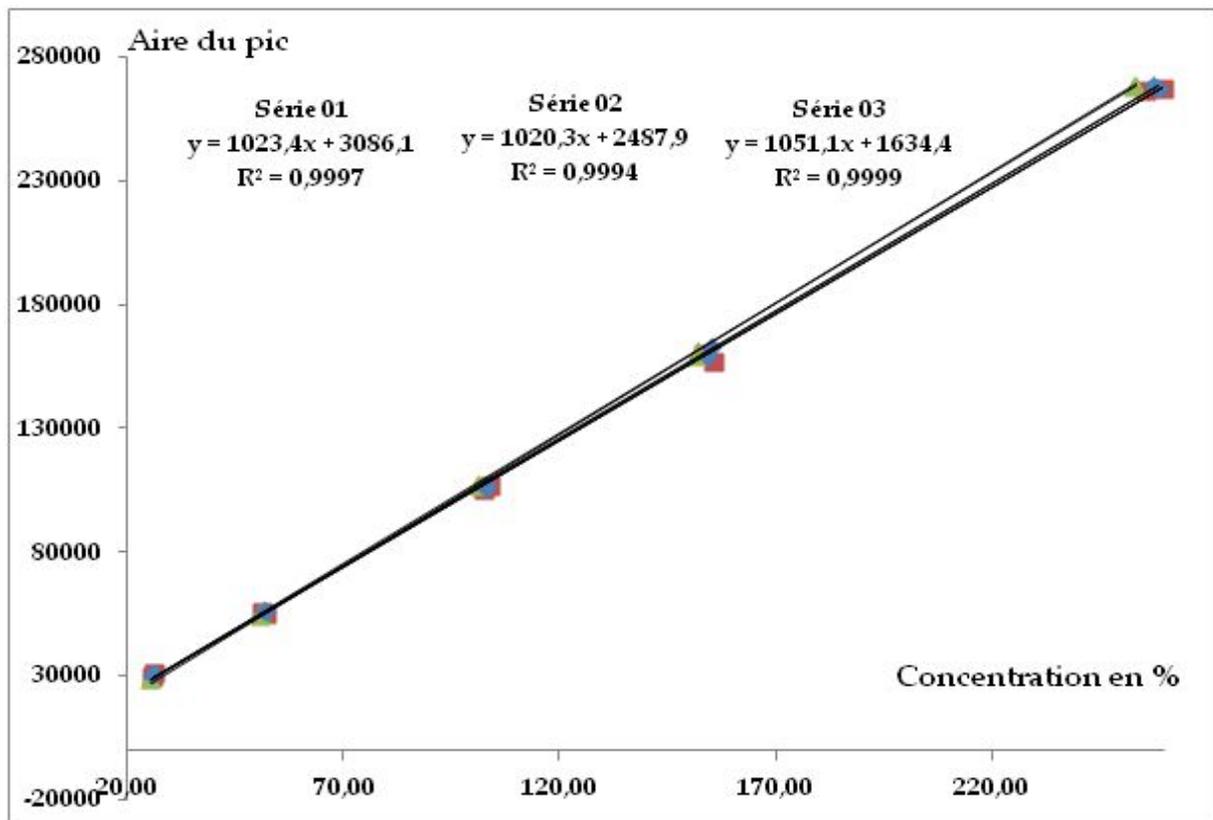
La fonction de réponse d'une méthode analytique est, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existant entre la réponse instrumentale (aire du pic) et la concentration de la substance à examiner dans l'échantillon. La fonction de réponse monotone la plus simple qui exprime cette relation est appelée "courbe d'étalonnage".

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux LI, LII, LIII, LIV et les figures 20, 21, 22 et 23. Le choix de la fonction de réponse est documenté dans le tableau LV.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LI : Résultats obtenus pour la fonction  $y = ax + b$**

Fonction de réponse : Modèle $y = ax + b$							
Niveaux de concentration	Repetitions	Série 01		Série 02		Série 03	
		Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène
1	1	25,73	30115	25,96	31214	25,35	28869
	2	25,88	30950	25,56	29408	25,28	28890
2	1	51,46	56684	51,93	54844	50,70	55814
	2	51,77	56246	51,12	55699	50,56	54700
3	1	102,91	106212	103,85	106595	101,41	106675
	2	103,53	106934	102,25	105658	101,11	107521
4	1	154,37	159463	155,78	156674	152,11	161558
	2	155,30	163189	153,37	160339	151,67	159445
5	1	257,28	268574	259,63	267325	253,52	268931
	2	258,83	267365	255,62	266269	252,78	267938
Pente		1023,4324		1020,3176		1051,1091	
Ordonnée à l'origine		3086,0829		2487,9327		1634,3949	
Coefficient de corrélation		0,9998		0,9997		0,9999	

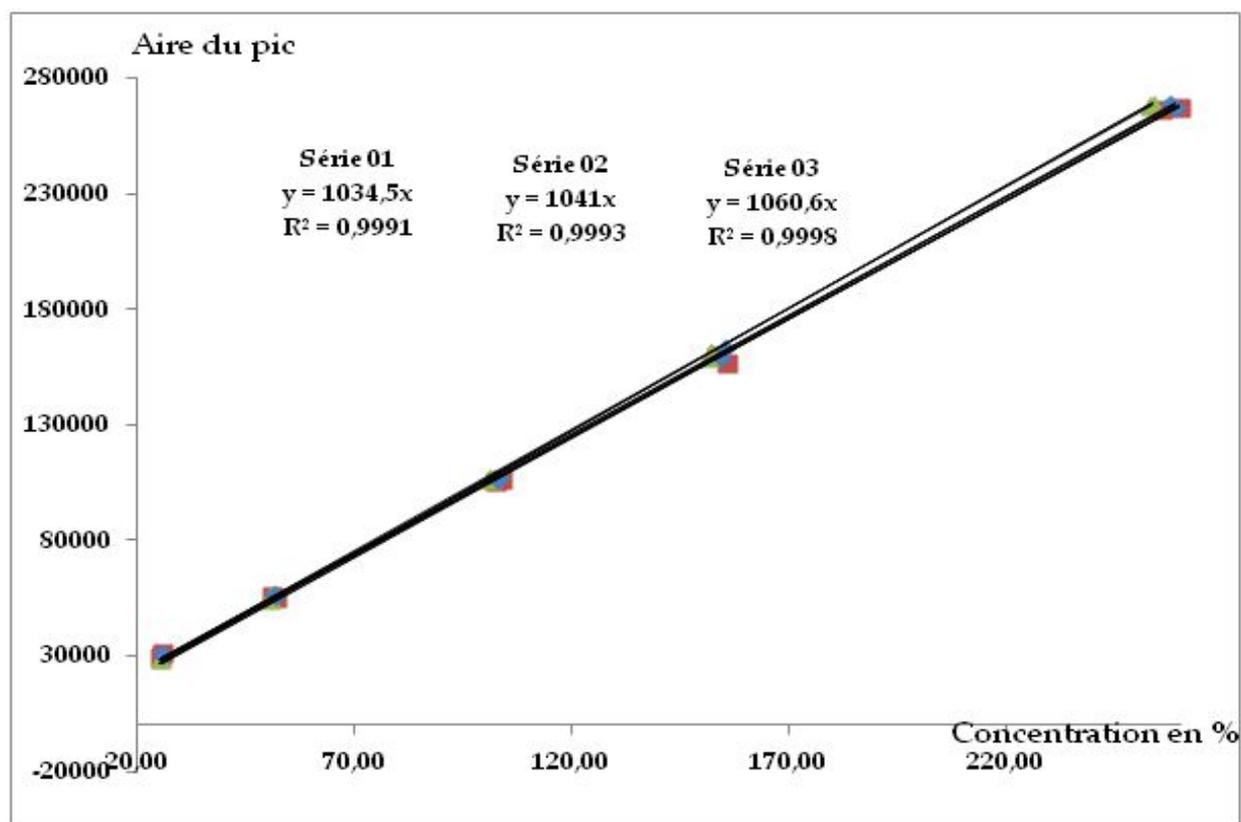


**Figure 20 : Courbe d'étalonnage obtenue pour la fonction  $y = ax + b$**

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LII : Résultats obtenus pour la fonction  $y = ax$**

Fonction de réponse : Modèle $y = ax$							
Niveaux de concentration	Repetitions	Série 01		Série 02		Série 03	
		Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène
	1	0,00	0,0000	0,00	0,0000	0,00	0,0000
	2	0,00	0,0000	0,00	0,0000	0,00	0,0000
1	1	25,73	30115	25,96	31214	25,35	28869
	2	25,88	30950	25,56	29408	25,28	28890
2	1	51,46	56684	51,93	54844	50,70	55814
	2	51,77	56246	51,12	55699	50,56	54700
3	1	102,91	106212	103,85	106595	101,41	106675
	2	103,53	106934	102,25	105658	101,11	107521
4	1	154,37	159463	155,78	156674	152,11	161558
	2	155,30	163189	153,37	160339	151,67	159445
5	1	257,28	268574	259,63	267325	253,52	268931
	2	258,83	267365	255,62	266269	252,78	267938
Pente		1034,5		1041,0		1060,6000	
Ordonnée à l'origine		0,0000		0,0000		0,0000	
Coefficient de corrélation		0,9995		0,9996		0,9999	

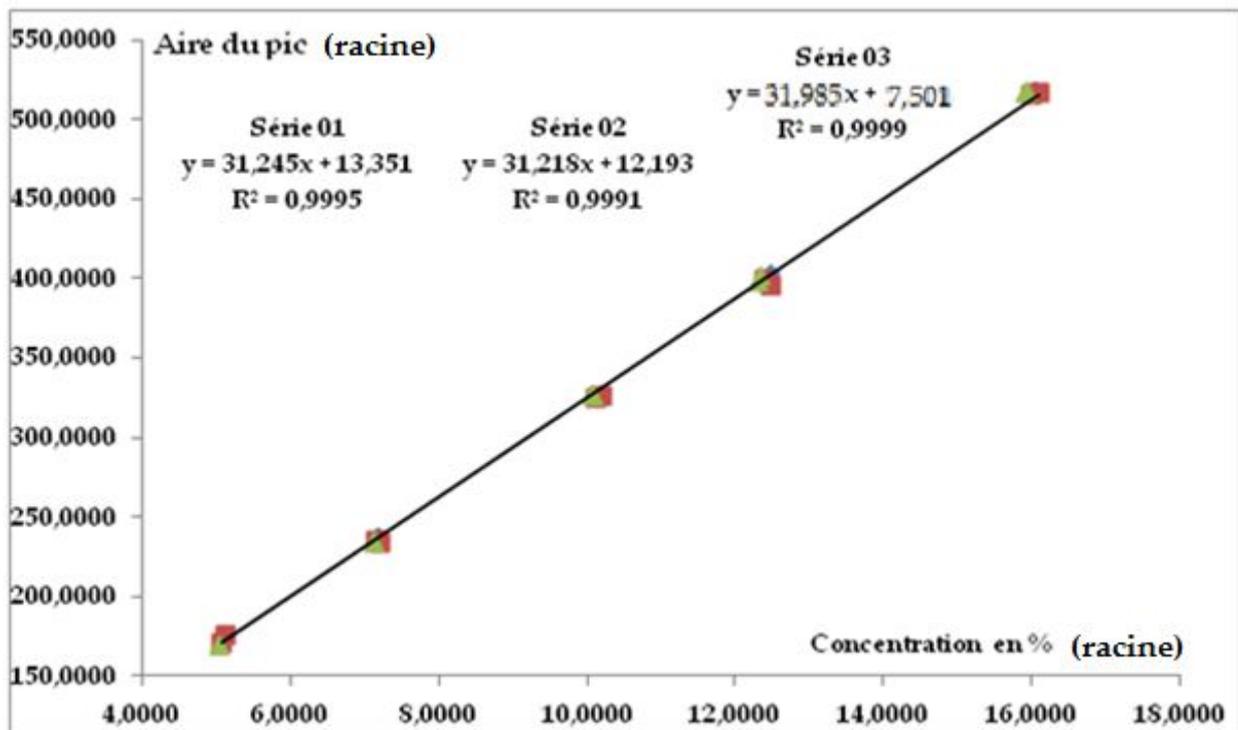


**Figure 21 : Courbe d'étalonnage obtenue pour la fonction  $y = ax$**

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LIII : Résultats obtenus pour la fonction  $\sqrt{y} = f\sqrt{x}$**

Fonction de réponse - Modèle : racine (y) = fonction racine (x)							
Niveaux de concentration	Repetitions	Série 01		Série 02		Série 03	
		Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène
1	1	5,0723	173,5367	5,0954	176,6748	5,0351	169,9088
	2	5,0875	175,9261	5,0559	171,4876	5,0277	169,9706
2	1	7,1733	238,0840	7,2060	234,1880	7,1207	236,2499
	2	7,1948	237,1624	7,1501	236,0064	7,1102	233,8803
3	1	10,1446	325,9018	10,1908	326,4889	10,0701	326,6114
	2	10,1750	327,0076	10,1117	325,0508	10,0554	327,9039
4	1	12,4246	399,3282	12,4811	395,8207	12,3333	401,9428
	2	12,4618	403,9666	12,3843	400,4235	12,3153	399,3056
5	1	16,0401	518,2413	16,1130	517,0348	15,9223	518,5856
	2	16,0881	517,0735	15,9880	516,0126	15,8990	517,6273
Pente		31,2454		31,2181		31,9853	
Ordonnée à l'origine		13,3508		12,1926		7,5014	
Coefficient de corrélation		0,9997		0,9996		0,9999	

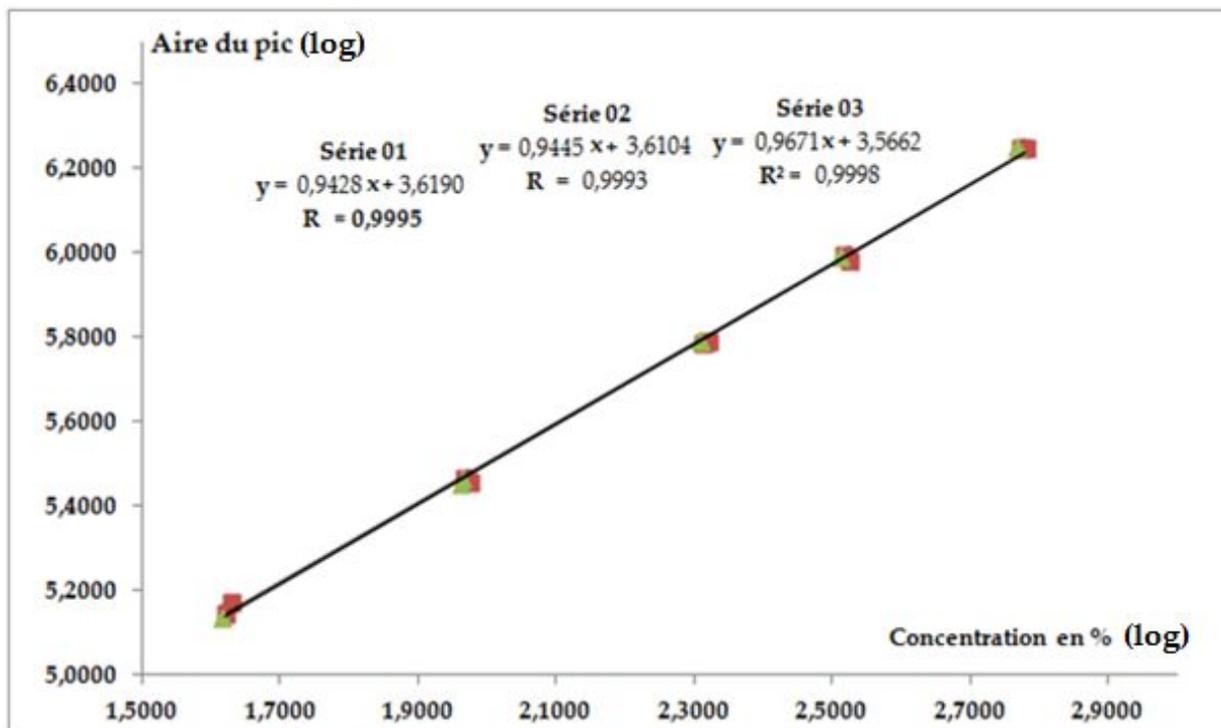


**Figure 22 : Courbe d'étalonnage obtenue pour la fonction  $\sqrt{y} = f\sqrt{x}$**

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LIV : Résultats obtenus pour la fonction  $\ln y = f(\ln x)$**

Fonction de réponse - Modèle : $\ln(y)$ =fonction $\ln(x)$							
Niveaux de concentration	Repetitions	Série 01		Série 02		Série 03	
		Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène	Concentration en %	Aire du pic de kétoprofène
1	1	1,6238	5,1564	1,6283	5,1743	1,6164	5,1353
	2	1,6268	5,1701	1,6205	5,1445	1,6150	5,1356
2	1	1,9704	5,4726	1,9749	5,4561	1,9630	5,4649
	2	1,9734	5,4687	1,9671	5,4639	1,9615	5,4548
3	1	2,3169	5,7866	2,3215	5,7884	2,3096	5,7888
	2	2,3199	5,7900	2,3137	5,7840	2,3081	5,7927
4	1	2,5197	5,9898	2,5242	5,9810	2,5123	5,9963
	2	2,5227	6,0013	2,5164	5,9925	2,5108	5,9897
5	1	2,7751	6,2504	2,7796	6,2481	2,7677	6,2511
	2	2,7781	6,2482	2,7718	6,2461	2,7663	6,2493
Pente		0,9428		0,9445		0,9671	
Ordonnée à l'origine		3,6190		3,6104		3,5662	
Coefficient de corrélation		0,9995		0,9993		0,9998	



**Figure 23 : Courbe d'étalonnage obtenue pour la fonction  $\ln y = f(\ln x)$**

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LV : Choix de la fonction de réponse [153]**

Fonction de réponse	Indice d'Exactitude	Limite inférieure et supérieure de quantification (en %)	Indice de Fidélité	Indice de Justesse
Régression linéaire après transformation racine carrée	0.7150	[ 25.57 , 228.9]	0.4899	0.8446
Régression linéaire pondérée (1/X)	0.7065	[ 25.57 , 224.0]	0.4850	0.8429
<b>Régression linéaire (y = ax + b)</b>	<b>0.7045</b>	<b>[ 25.57 , 216.7]</b>	<b>0.4849</b>	<b>0.8681</b>
Régression quadratique	0.7003	[ 34.32 , 230.1]	0.4774	0.8454
Régression linéaire pondérée (1/X <sup>2</sup> )	0.6890	[ 36.41 , 229.8]	0.4620	0.8426
Régression quadratique pondérée (1/X)	0.6846	[ 39.59 , 227.2]	0.4663	0.8439
Régression quadratique pondérée (1/X <sup>2</sup> )	0.6839	[ 39.73 , 228.1]	0.4628	0.8445
Régression linéaire passant par 0 . Ajustée en utilisant uniquement le plus haut niveau (5)	0.6839	[ 37.07 , 222.5]	0.5026	0.7897
Régression linéaire après transformation logarithmique	0.6680	[ 76.02 , 255.7]	0.4646	0.8215

– **Discussion**

Le choix de la fonction de réponse porte sur le modèle mathématique correspondant à l'intervalle de mesure le plus large, contenu dans l'intervalle d'acceptabilité ou bien à celui ayant un indice **d'exactitude le plus élevé**.

D'après le tableau LV, la fonction racine-racine correspond au modèle ayant l'intervalle de mesure le plus large. Or et compte tenu de sa **complexité** d'application en routine par rapport au modèle linéaire simple  $y = ax+b$ , **ce dernier est retenu comme fonction de réponse dans notre étude**.

L'inconvénient étant de rétrécir l'intervalle de mesure de [25.57 – 228.9]% à [25.57 – 216.7]. **Cette restriction concerne la limite supérieure de quantification et non pas la limite inférieure. Du fait que notre méthode concerne un dosage à l'état de traces, nous nous intéressons plus aux concentrations faibles qu'aux concentrations élevées. Cette restriction de l'intervalle du dosage n'impactera pas donc la fiabilité de notre méthode.**

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

**2.3.3. Justesse – Fidélité – Exactitude**

**2.3.3.1. Alignement des réponses**

L'alignement appliqué aux réponses obtenues avec les trois séries des standards de validation, sur la moyenne des masses introduites pour chaque niveau de concentration théorique est résumé dans les tableaux LVI.

**Tableau LVI-A : Alignement des réponses des SV – Moyenne des concentrations**

Niveaux	Niveaux de concentrations en %	Moyenne des concentrations xi (Série 01)	Moyenne des concentrations xi (Série 02)	Moyenne des concentrations xi (Série 03)
1	25,00%	25,7	25,77	25,24
2	50,00%	51,39	51,54	50,48
3	100,00%	102,78	103,09	100,95
4	150,00%	154,17	154,63	151,43
5	250,00%	256,95	257,72	252,39

**Tableau LVI-B : Alignement des réponses des SV – Série 01**

Niveaux	Niveaux de concentrations en %	répétitions	Séries 01		
			Concentrations des standards de validation	Réponses : Aire du pic de kétoprofène	Alignement des réponses
1	25,00%	1	25,73	28405	28371
		2	25,88	28888	28696
		3	25,48	28554	28779
2	50,00%	1	51,46	52898	52831
		2	51,77	53086	52703
		3	50,95	53457	53908
3	100,00%	1	102,91	108298	108163
		2	103,53	103778	103011
		3	101,90	100034	100935
4	150,00%	1	154,37	161738	161536
		2	155,30	155029	153879
		3	152,85	150457	151809
5	250,00%	1	257,28	253396	253059
		2	258,83	251403	249487
		3	254,75	244857	247110
Pente a (SE)			1023,432446		
Ordonnée à l'origine (SE)			3086,082946		

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LVI-C : Alignement des réponses des SV – Série 02**

Niveaux	Niveaux de concentrations en %	répétitions	Séries 02		
			Concentrations des standards de validation	Réponses : Aire du pic de kétoprofène	Alignement des réponses
1	25,00%	1	25,96	30412	30217
		2	25,56	28659	28873
		3	25,79	29104	29085
2	50,00%	1	51,93	54789	54399
		2	51,12	53815	54243
		3	51,58	54212	54174
3	100,00%	1	103,85	102213	101432
		2	102,25	102888	103745
		3	103,16	104746	104670
4	150,00%	1	155,78	155213	154042
		2	153,37	153371	154656
		3	154,74	153828	153715
5	250,00%	1	259,63	268976	267024
		2	255,62	260396	262537
		3	257,90	252633	252444
Pente a (SE)			1020,317631		
Ordonnée à l'origine (SE)			2487,932666		

**Tableau LVI-D : Alignement des réponses des SV – Série 03**

Niveaux	Niveaux de concentrations en %	répétitions	Séries 03		
			Concentrations des standards de validation	Réponses : Aire du pic de kétoprofène	Alignement des réponses
1	25,00%	1	25,35	28811	28692
		2	25,28	28436	28395
		3	25,09	27188	27348
2	50,00%	1	50,70	53457	53219
		2	50,56	53086	53004
		3	50,17	52898	53218
3	100,00%	1	101,41	103479	103003
		2	101,11	102059	101895
		3	100,35	101910	102550
4	150,00%	1	152,11	150742	150028
		2	151,67	151582	151335
		3	150,52	149255	150215
5	250,00%	1	253,52	251596	250406
		2	252,78	252603	252192
		3	250,86	262208	263808
Pente a (SE)			1051,109074		
Ordonnée à l'origine (SE)			1634,394886		

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

2.3.3.2. **Calcul des prédictions inverses** : Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux LVII.

**Tableau LVII-A : Calcul des prédictions inverses – Série 01**

Niveaux	Niveaux de concentrations en %	répétitions	Séries 01		
			Réponses alignées	Réponses instrumentales	Prédictions inverses
1	25,00%	1	28371,31	28405	24,71
		2	28696,37	28888	25,02
		3	28779,32	28554	25,10
2	50,00%	1	52830,61	52898	48,61
		2	52702,74	53086	48,48
		3	53907,65	53457	49,66
3	100,00%	1	108163,23	108298	102,67
		2	103011,48	103778	97,64
		3	100935,29	100034	95,61
4	150,00%	1	161535,84	161738	154,82
		2	153879,22	155029	147,34
		3	151808,94	150457	145,32
5	250,00%	1	253059,07	253396	244,25
		2	249486,70	251403	240,76
		3	247110,24	244857	238,44
Pente a (SE)			1023,432446		
Ordonnée à l'origine (SE)			3086,082946		

**Tableau LVII-B : Calcul des prédictions inverses – Série 02**

Niveaux	Niveaux de concentrations en %	répétitions	Séries 02		
			Réponses alignées	Réponses instrumentales	Prédictions inverses
1	25,00%	1	30216,75	30412	27,18
		2	28873,14	28659	25,86
		3	29085,11	29104	26,07
2	50,00%	1	54398,51	54789	50,88
		2	54243,28	53815	50,72
		3	54174,21	54212	50,66
3	100,00%	1	101432,02	102213	96,97
		2	103744,56	102888	99,24
		3	104670,42	104746	100,15
4	150,00%	1	154041,52	155213	148,54
		2	154655,84	153371	149,14
		3	153714,63	153828	148,22
5	250,00%	1	267023,54	268976	259,27
		2	262537,41	260396	254,87
		3	252444,05	252633	244,98
Pente a (SE)			1020,317631		
Ordonnée à l'origine (SE)			2487,932666		

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LVII-C : Calcul des prédictions inverses – Série 03**

Niveaux	Niveaux de concentrations en %	répétitions	Séries 03		
			Réponses alignées	Réponses instrumentales	Prédictions inverses
1	25,00%	1	28692,05	28811	25,74
		2	28394,91	28436	25,46
		3	27348,05	27188	24,46
2	50,00%	1	53219,09	53457	49,08
		2	53003,81	53086	48,87
		3	53218,09	52898	49,08
3	100,00%	1	103003,19	103479	96,44
		2	101894,63	102059	95,39
		3	102550,18	101910	96,01
4	150,00%	1	150028,28	150742	141,18
		2	151335,44	151582	142,42
		3	150215,27	149255	141,36
5	250,00%	1	250406,47	251596	236,68
		2	252192,07	252603	238,37
		3	263808,45	262208	249,43
Pente a (SE)			1051,109074		
Ordonnée à l'origine (SE)			1634,394886		

**Tableau LVIII : Résumé, concentrations introduites – concentrations prédites**

Niveaux	Conc théorique en %	répétitions	Concentrations introduites					Concentrations prédites				
			Série 01	Série 02	Série 03	Moyenne répétion	Moyenne niveau	Série 01	Série 02	Série 03	Moyenne répétion	Moyenne niveau
1	25,00%	1	25,73	25,96	25,35	25,68	25,57	24,71	27,18	25,74	25,88	25,51
		2	25,88	25,56	25,28	25,57		25,02	25,86	25,46	25,45	
		3	25,48	25,79	25,09	25,45		25,10	26,07	24,46	25,21	
2	50,00%	1	51,46	51,93	50,70	51,36	51,14	48,61	50,88	49,08	49,52	49,56
		2	51,77	51,12	50,56	51,15		48,48	50,73	48,87	49,36	
		3	50,95	51,58	50,17	50,90		49,66	50,66	49,07	49,79	
3	100,00%	1	102,91	103,85	101,41	102,72	102,27	102,67	96,97	96,45	98,70	97,79
		2	103,53	102,25	101,11	102,30		97,64	99,24	95,39	97,42	
		3	101,90	103,16	100,35	101,80		95,61	100,15	95,99	97,25	
4	150,00%	1	154,37	155,78	152,11	154,09	153,41	154,82	148,53	141,20	148,18	146,48
		2	155,30	153,37	151,67	153,44		147,34	149,14	142,43	146,30	
		3	152,85	154,74	150,52	152,70		145,32	148,21	141,33	144,95	
5	250,00%	1	257,28	259,63	253,52	256,81	255,69	244,25	259,26	236,71	246,74	245,23
		2	258,83	255,62	252,78	255,74		240,76	254,88	238,38	244,67	
		3	254,75	257,90	250,86	254,51		238,44	244,98	249,39	244,27	

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**2.3.3.3. Justesse : Calcul du biais absolu, biais relatif et les recouvrements**

**Tableau LIX : Calcul du biais absolu, biais relatifs et des recouvrements**

Niveaux	Conc théorique en %	répétitions	Exactitude ijk			Exactitude ij (moyenne)	% de Recouvrement		Biais	
			Série 01	Série 02	Série 03		Par niveau	Moyenne	Absolu	Relatif
1	25,00%	1	-3,97	4,67	1,55	0,75	96,03	97,09	-0,06	-0,22
		2	-3,32	1,17	0,72	-0,48	96,68			
		3	-1,45	1,08	-2,50	-0,96	98,55			
2	50,00%	1	-5,54	-2,02	-3,20	-3,59	94,46	95,19	-1,58	-3,09
		2	-6,35	-0,78	-3,33	-3,48	93,65			
		3	-2,54	-1,79	-2,20	-2,18	97,46			
3	100,00%	1	-0,24	-6,63	-4,89	-3,92	99,76	95,97	-4,48	-4,38
		2	-5,69	-2,94	-5,66	-4,76	94,31			
		3	-6,17	-2,92	-4,34	-4,48	93,83			
4	150,00%	1	0,29	-4,65	-7,18	-3,84	100,29	96,75	-6,93	-4,52
		2	-5,12	-2,76	-6,09	-4,66	94,88			
		3	-4,93	-4,22	-6,10	-5,08	95,07			
5	250,00%	1	-5,07	-0,14	-6,63	-3,95	94,93	93,85	-10,46	-4,09
		2	-6,98	-0,29	-5,69	-4,32	93,02			
		3	-6,40	-5,01	-0,59	-4,00	93,60			

**2.3.3.4. Fidélité : Calcul des coefficients de variation de répétabilité et de fidélité intermédiaire**

**Tableau LX : Calcul des écarts types de répétabilité et de fidélité inter-séries**

Niveaux Théoriques	MSM	MSE <sub>1</sub>	MSE <sub>2</sub>	Ecart type de répétabilité	Ecart type inter-série	Ecart type de F.I
25	1,708	0,332	0,676	0,576	0,677	0,889
50	3,216	0,148	0,915	0,385	1,011	1,082
100	7,682	5,392	5,964	2,322	0,874	2,481
150	52,666	8,579	19,601	2,929	3,834	2,824
250	137,421	36,685	61,869	6,057	5,795	8,382

**Tableau LXI : Calcul des CV de répétabilité et de fidélité intermédiaire**

Niveaux Théoriques en %	CV de répétabilité	CV de Fidélité intermédiaire (F.I)
25	2,254	3,478
50	0,753	2,116
100	2,270	2,426
150	1,909	3,145
250	2,369	3,278

# PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

## 2.3.3.5. Exactitude : Erreur totale et profil d'exactitude

Les résultats du calcul des erreurs totales et relatives ainsi que les limites de l'intervalle de tolérance sont présentés dans les tableaux LXII.

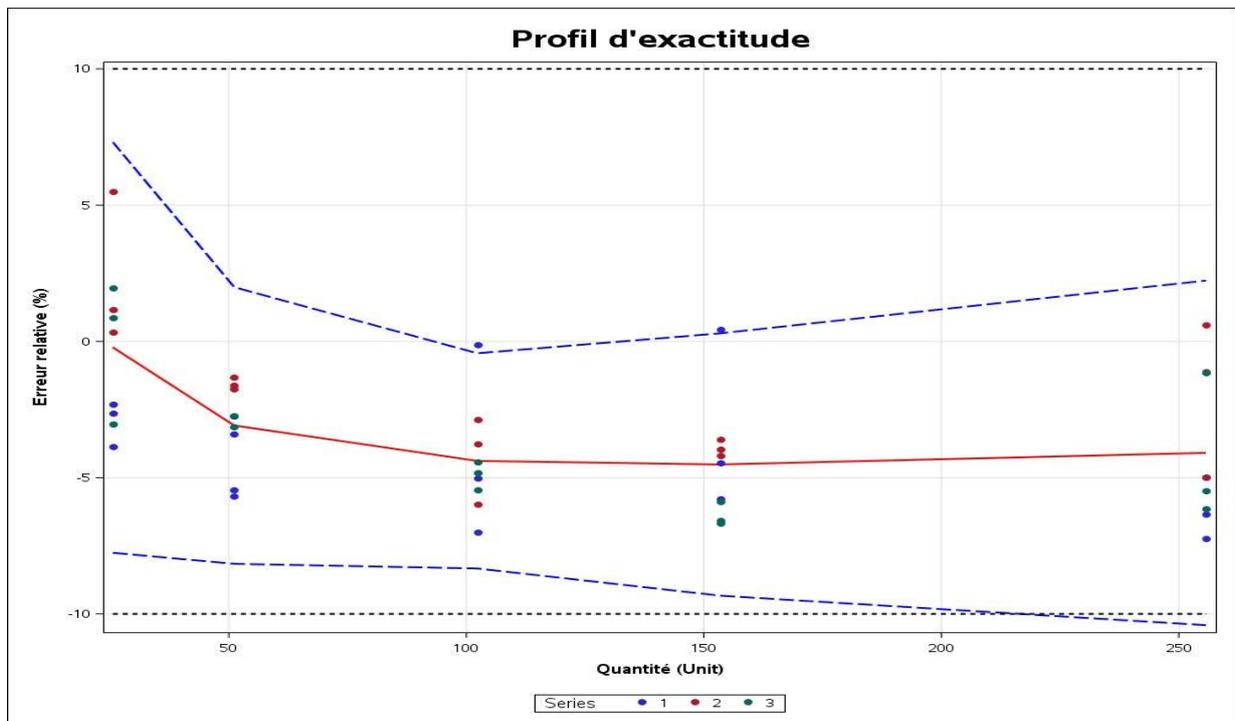
**Tableau LXII-A : Calcul de l'erreur total absolue et de l'erreur totale relative.**

Niveaux Théoriques	Erreur totale absolue	Erreur totale relative
25%	0,946	3,701
50%	2,661	5,203
100%	6,965	6,810
150%	11,755	7,663
250%	18,842	7,369

**Tableau LXII-B : Calcul des intervalles de tolérance par niveau de concentration [153]**

Niveaux de concentrations (en %)	Moyenne des concentrations introduites	Biais relatif (%)	Limites inférieur de l'intervalle de tolérance	Limites supérieure de l'intervalle de tolérance
25%	25.57	-0.2231	-7.756	, 7.310
50%	51.14	-3.087	-8.161	1.987
100%	102.3	-4.384	-8.333	-0.4356
150%	153.4	-4.518	-9.330	0.2946
250%	255.7	-4.091	-10.41	2.232

**2.3.3.6. Etablissement du profil d'exactitude :** Le profil d'exactitude correspondant au model  $ax + b$  est présenté dans la figure 24.



**Figure 24 : Profil d'exactitude en considérant la régression linéaire  $y = ax + b$  [153].**

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

### 2.3.4. Intervalle de dosage

Par intersection entre le profil d'exactitude et les limites d'acceptabilité  $\pm 10\%$ , les limites inférieure et supérieure de quantification sont définies comme suit ;

- **Limite inférieure de quantification** = 25,57% soit une concentration de  $25,57\% \times 0,81 \mu\text{g/ml} = 0,207 \mu\text{g/ml}$ .
- **Limite supérieure de quantification** = 216,7% soit une concentration de  $216,7\% \times 0,81 \mu\text{g/ml} = 1,755 \mu\text{g/ml}$ .

**L'intervalle de dosage de la méthode de dosage du kétoprofène est de [25,57 % - 216,7%] correspondant à un intervalle de concentrations de [0,207  $\mu\text{g/ml}$  – 1,755  $\mu\text{g/ml}$ ]**

### 2.3.5. Linéarité

La linéarité de la méthode est sa capacité de fournir des résultats (concentration prédite ou calculée) proportionnels à la concentration (introduite) de la substance analysée.

La droite de régression linéaire : Concentrations prédites en fonction des concentrations introduites est présentée dans la figure 25.

Les caractéristiques de cette droite de régression sont présentées dans le tableau LXIII.

**Tableau LXIII : Caractéristiques de la droite de régression linéaire – linéarité de la méthode**

Paramètre	Pente	Ordonnée à l'origine	Différence avec 0	
			Pente	Ord. orig
Valeur	$B = 0,95368$	$A = 0,60747$		
Erreur	$\sigma_B = 0,00673$	$\sigma_A = 0,96265$		
Comparaison avec de la pente avec 0	$t \text{ calculé} = B/\sigma_B$ $= 141,7$	$t \text{ calculé} = A/\sigma_A$ $= 0,63$	$t_{\text{calculé}} > t^\circ$ différence significative	$t_{\text{calculé}} < t^\circ$ différence non significative
	$t^\circ (0,05, 44) =$	$t^\circ (0,05, 44) =$		

**Dosage du kétoprofène par HPLC - Linéarité de la méthode :  
Concentrations prédites = f(concentrations introduites)**

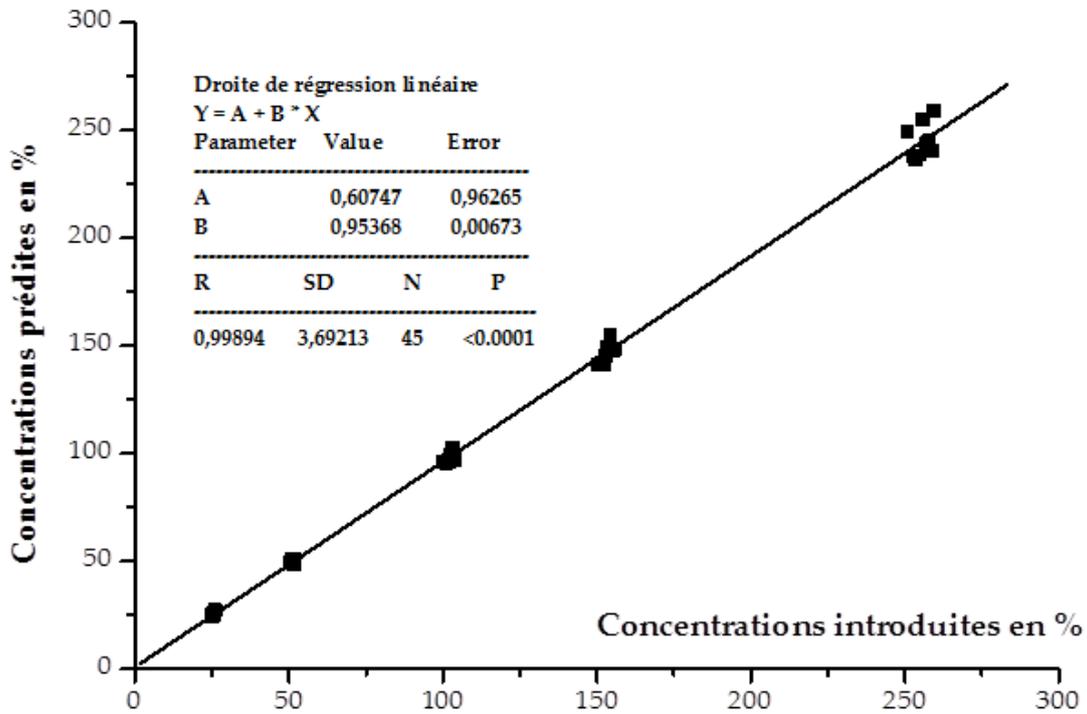


Figure 25 : Droite de régression linéaire : Concentration prédites = f(concentrations introduites).

**Discussion du paramètre linéarité :**

La méthode est linéaire dans l'intervalle de concentration de 0,207 µg/ml – 1,755 µg/ml avec une droite : Concentration prédite = 0,95368 Concentration introduite + 0,60747 et une régression satisfaisante (coefficient de corrélation R = 0,99894).

**2.3.6. Robustesse**

Le plan d'expérience réalisé pour l'étude de la robustesse de la méthode est présenté dans le tableau LXIV.

Tableau LXIV : Plan d'expérience 2<sup>3</sup> pour l'étude de la robustesse

Essai	Facteurs			interactions			
	A (teneur)	B (débit)	C (λ en nm)	AB	AC	BC	ABC
1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1
3	-1	1	-1	-1	-1	-1	1
4	1	1	-1	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	1	1	-1	1
6	1	-1	1	-1	-1	-1	-1
7	-1	1	1	-1	-1	1	-1
8	1	1	1	1	1	1	1
Niveau bas	90%	1,2 ml/mn	252				
Niveau haut	110%	1,8 ml/mn	256				

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

Les données brutes et les calculs des réponses du paramètre robustesse sont présentés dans le tableau LXV. Le Calcul de l'intervalle de confiance des effets des paramètres est présenté dans le tableau LXVI.

**Tableau LXV : Données brutes et les calculs des réponses du paramètre robustesse**

N° de l'essai	Facteur A (teneur en %)	Facteur B (Débit ml/min)	Facteur C ( $\lambda$ en nm)	Conc. - introduite SV	Conc - SE (%)	Conc. introduite (%)	Aire du pic (SV)	Aire du pic (SE 100%)	Conc. Estimée (%)	Reponse (Conc. en %)
1	90%	1,2	252	91,71	100,00	91,71	111716	128136	87,19	87,19
2	110%	1,2	252	112,09	100,00	112,09	134701	128136	105,12	105,12
3	90%	1,8	252	91,71	100,00	91,71	74518	85593	87,06	87,06
4	110%	1,8	252	112,09	100,00	112,09	90223	85593	105,41	105,41
5	90%	1,2	256	91,71	100,00	91,71	117387	135078	86,90	86,90
6	110%	1,2	256	112,09	100,00	112,09	141884	135078	105,04	105,04
7	90%	1,8	256	91,71	100,00	91,71	93894	105669	88,86	88,86
8	110%	1,8	256	112,09	100,00	112,09	113405	105669	107,32	107,32
									Ecartype	9,78
									t°(0,05,7)	2,36

**Tableau LXVI : Calcul de l'intervalle de confiance des effets des paramètres**

Essai	Facteurs			Interactions				
	A	B	C	AB	AC	BC	ABC	
1	-87,19	-87,19	-87,19	87,19	87,19	87,19	-87,19	
2	105,12	-105,12	-105,12	-105,12	-105,12	105,12	105,12	
3	-87,06	87,06	-87,06	-87,06	-87,06	-87,06	87,06	
4	105,41	105,41	-105,41	105,41	105,41	-105,41	-105,41	
5	-86,90	-86,90	86,90	86,90	86,90	-86,90	86,90	
6	105,04	-105,04	105,04	-105,04	-105,04	-105,04	-105,04	
7	-88,86	88,86	88,86	-88,86	-88,86	88,86	-88,86	
8	107,32	107,32	107,32	107,32	107,32	107,32	107,32	
Somme	72,89	4,40	3,34	0,74	0,74	4,07	-0,08	
Effet	9,11	0,55	0,42	0,09	0,09	0,51	-0,01	
Intervalle de confiance	Limite inferieur	0,93	-7,63	-7,76	-8,09	-8,09	-7,67	-8,19
	Limite superieur	17,29	8,73	8,60	8,27	8,27	8,69	8,17
Facteur significatif (S) ou Non significatif (NS)		S	NS	NS	NS	NS	NS	NS

### Discussion :

- **Pour le paramètre A** : L'intervalle de confiance de son effet ne contient pas la valeur 0, la méthode n'est pas robuste pour le paramètre A. Ceci est prévisible, car la méthode est jugée linéaire donc sensible à la concentration en principe actif.
- **Pour les paramètres B et C et leurs interactions** : Les intervalles de confiances de leurs effets contiennent la valeur 0. La méthode est jugée robuste pour les changements des paramètres: débit de la phase mobile et longueur d'onde de détection dans les limites étudiées.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**2.3.7. Stabilité des solutions**

**2.3.7.1. Stabilité des solutions du kétoprofène dans le passeur échantillon et à température ambiante.**

Les résultats de l'étude de la stabilité des solutions du kétoprofène dans le passeur échantillon et à température ambiante sont présentées dans le tableau LXVII.

**Tableau LXVII-A : Résultats de l'étude de stabilité des solutions de kétoprofène dans le passeur échantillon et à température ambiante**

<b>Stabilité des solutions dans le passeur échantillon</b>				
<b>Solution</b>	<b>Temps</b>	<b>Aire du pic de kétoprofène</b>	<b>Variation de l'aire du pic <math>x = \Delta A/A_0</math></b>	<b>Résultats (norme <math>\leq 2,0\%</math>)</b>
Solution SV 100%	t = 0 h	106272	NA	NA
	t = 1 heure	106205	-0,06	Conforme
	t = 2 heures	105923	-0,33	Conforme
	t = 3 heures	105525	-0,70	Conforme
	t = 4 heures	105868	-0,38	Conforme
<b>Stabilité des solutions à température ambiante</b>				
<b>Solution</b>	<b>Temps</b>	<b>Aire du pic de kétoprofène</b>	<b>Variation de l'aire du pic <math>x = \Delta A/A_0</math></b>	<b>Résultats (norme <math>\leq 5,0\%</math>)</b>
Solution SV 100%	t = 0 h	111009	NA	NA
	t = 6 h	108506	<b>-2,25</b>	Conforme
	t = 12 heures	107309	<b>-3,33</b>	Conforme
	t = 24 heures	105750	<b>-4,74</b>	Conforme

**2.3.7.2. Stabilité des solutions du kétoprofène à température de réfrigération.**

– **Calcul du facteur de similarité des deux solutions standards**

Standard 1 : prise d'essai = 42,6 mg, concentration  $C_1 = 0,852 \mu\text{g/ml}$ , Aire de pic du kétoprofène = 125318

Standard 2 : prise d'essai = mg, 42,4 mg, concentration  $C_2 = 0,844$ , Aire de pic du kétoprofène = 124254.

$$\text{Facteur de similarité} = \frac{C_1}{A_1} \times \frac{A_2}{C_2} = \frac{0,852}{125318} \times \frac{124254}{0,848} = 0,996$$

**Norme :** Le facteur de similarité doit être compris entre 0,98 et 1,02

**Résultats :** Le facteur de similarité est compris dans l'intervalle d'acceptation

**Tableau LXVII-B : Résultats de l'étude de stabilité des solutions de kétoprofène à température de réfrigération**

<b>Stabilité des solutions à la température de réfrigération</b>					
<b>Solution</b>	<b>Temps</b>	<b>Aire du pic de kétoprofène</b>	<b>Concentration de kétoprofène (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	<b>Variation de concentration <math>x = \Delta C/C_0</math></b>	<b>Résultats (norme <math>\leq 5,0\%</math>)</b>
Solution SV 100%	t = 0 h	111009	0,756	NA	NA
	t = 24 h	108226	0,737	<b>-2,51</b>	Conforme
	t = 3 jours	107914	0,735	<b>-2,79</b>	Conforme
	t = 7 jours	101812	0,694	<b>-8,28</b>	Non Conforme

### **Discussion**

- L'étude de stabilité des solutions a révélé une bonne stabilité du kétoprofène dans le passeur échantillon de l'HPLC, à température ambiante pendant 24 heures et à la température de réfrigération pendant 3 jours.

#### **2.4. Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage**

Les rendements d'extraction sont calculés à partir des solutions des standards de validation pour chaque série et pour chaque répétition d'un niveau de concentration. Les résultats sont présentés dans le tableau LXVIII.

Les taux de recouvrement sont calculés par analyse des solutions plaques préparées par contamination d'une surface en inox de 100 cm<sup>2</sup> et écouvillonnée selon la méthode décrite préalablement. Les résultats sont présentés dans le tableau LXIX.

Le tableau LXX présente les moyennes et les pourcentages des coefficients de variation (CV) pour chaque niveau de concentration, la moyenne globale et le CV total (pour le rendement d'extraction et le taux de recouvrement).

PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

Tableau LXVIII : Calcul des rendements d'extraction pour les prélevement par écouvillonnage

Calcul des rendements d'extraction																		
Niveau Théorique	Répétitions	Solutions standards						Solutions écouvillons						RENDEMENT D'EXTRACTION				
		Série 01		Série 02		Série 03		Série 01		Série 02		Série 03		Série 01	Série 02	Série 03	Moyenne	
		% Réel	Aire du pic	% Réel	Aire du pic	% Réel	Aire du pic	% Réel (Xi)	Aire du pic	% Réel (Xi)	Aire du pic	% Réel (Xi)	Aire du pic					
25	1	25,73	30115	25,96	31214	25,35	28869	25,73	28405	25,96	30412	25,35	28811	96,16	105,41	101,99	101,18	
	2	25,88	30950	25,56	29408	25,28	28890	25,88	28888	25,56	28659	25,28	28436	97,41	100,34	100,87	99,54	
	3							25,48	28554	25,79	29104	25,09	27188	97,68	101,15	96,91	98,58	
50	1	51,46	56684	51,93	54844	50,70	55814	51,46	52898	51,93	54789	50,70	53457	94,59	98,72	97,24	96,85	
	2	51,77	56246	51,12	55699	50,56	54700	51,77	53086	51,12	53815	50,56	53086	94,38	98,40	96,82	96,53	
	3							50,95	53457	51,58	54212	50,17	52898	96,60	98,28	97,21	97,36	
100	1	102,91	106212	103,85	1E+05	101,41	106675	102,91	108298	103,85	102213	101,41	103479	99,89	94,11	95,55	96,52	
	2	103,53	106934	102,25	1E+05	101,11	107521	103,53	103778	102,25	102888	101,11	102059	95,03	96,24	94,49	95,25	
	3							101,90	100034	103,16	104746	100,35	101910	92,96	97,15	95,07	95,06	
150	1	154,37	159463	155,78	2E+05	152,11	161558	154,37	161738	155,78	155213	152,11	150742	100,42	96,09	93,26	96,59	
	2	155,30	163189	153,37	2E+05	151,67	159445	155,30	155029	153,37	153371	151,67	151582	95,60	96,42	94,06	95,36	
	3							152,85	150457	154,74	153828	150,52	149255	94,21	95,85	93,31	94,46	
250	1	257,28	268574	259,63	3E+05	253,52	268931	257,28	253396	259,63	268976	253,52	251596	95,06	100,60	93,80	96,49	
	2	258,83	267365	255,62	3E+05	252,78	267938	258,83	251403	255,62	260396	252,78	252603	93,74	98,89	94,46	95,70	
	3							254,75	244857	257,90	252633	250,86	262208	92,73	95,06	98,82	95,54	
		Pente	1023,4	Pente	1020	Pente	1051,1						Moyennes		95,76	98,18	96,26	96,73
		Ordonnée	3086,1	Ordonnée	2488	Ordonnée	1634,4											

PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

Tableau LXIX : Calcul des taux de recouvrements pour la méthode de prélèvement par écouvillonnage

Calcul des taux de recouvrement										
Standard d'étalonnage				Solutions plaques					Taux de Recouvrement	
Niveaux Théoriques	Répétitions	% Réel	Aire du pic de kétoprofène	Niveaux Théoriques	Répétitions	% Réel	Aire du pic de kétoprofène	Concentration estimée (en %)		
25	1	25,35	28869	25	1	25,35	27435	24,55	96,82	
	2	25,28	28890		2	25,35	26959	24,09	95,04	
	3				3	25,35	27666	24,77	97,69	
50	1	50,70	55814	50	1	50,70	53094	48,96	96,56	
	2	50,56	54700		2	50,70	51911	47,83	94,34	
	3				3	50,70	50432	46,42	91,56	
100	1	101,41	106675	100	1	101,41	105598	98,91	97,54	
	2	101,11	107521		2	101,41	104618	97,98	96,62	
	3				3	101,41	100403	93,97	92,66	
150	1	152,11	161558	200	1	152,11	151954	143,01	94,02	
	2	151,67	159445		2	152,11	148004	139,25	91,55	
	3				3	152,11	151954	143,01	94,02	
250	1	253,52	268931	400	1	253,52	253255	239,39	94,43	
	2	252,78	267938		2	253,52	251019	237,26	93,59	
	3				3	253,52	251333	237,56	93,70	
			Pente	1051,109074					Moyenne	94,67
			Ordonnée	1634,394886						

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LXX : Moyennes des rendements d'extraction et des taux de recouvrements**

Laboratoire de Chimie Analytique			Laboratoire de Chimie Analytique			
Validation du prélèvement de kétoprofène / contamination des écouvillons			Validation du prélèvement de kétoprofène / contamination des plaques			
Concentration en %	Rendements d'extraction en %		Concentration en %	Taux de recouvrement en %		
	Rendements obtenus			Rendements obtenus		
25%	Répétition 1	101,18	25%	Répétition 1	96,82	
	Répétition 2	99,54		Répétition 2	95,04	
	Répétition 3	98,58		Répétition 3	97,69	
	<b>Moyenne</b>	<b>99,77</b>		<b>Moyenne</b>	<b>Moyenne</b>	<b>96,52</b>
	<b>Ecart type</b>	<b>1,32</b>		<b>Ecart type</b>	<b>Ecart type</b>	<b>1,35</b>
	<b>% RSD</b>	<b>1,32</b>		<b>% RSD</b>	<b>% RSD</b>	<b>1,40</b>
50%	Répétition 1	96,85	50%	Répétition 1	96,56	
	Répétition 2	96,53		Répétition 2	94,34	
	Répétition 3	97,36		Répétition 3	91,56	
	<b>Moyenne</b>	<b>96,91</b>		<b>Moyenne</b>	<b>Moyenne</b>	<b>94,15</b>
	<b>Ecart type</b>	<b>0,42</b>		<b>Ecart type</b>	<b>Ecart type</b>	<b>2,50</b>
	<b>% RSD</b>	<b>0,43</b>		<b>% RSD</b>	<b>% RSD</b>	<b>2,66</b>
100%	Répétition 1	96,52	100%	Répétition 1	97,54	
	Répétition 2	95,25		Répétition 2	96,62	
	Répétition 3	95,06		Répétition 3	92,66	
	<b>Moyenne</b>	<b>95,61</b>		<b>Moyenne</b>	<b>Moyenne</b>	<b>95,60</b>
	<b>Ecart type</b>	<b>0,79</b>		<b>Ecart type</b>	<b>Ecart type</b>	<b>2,59</b>
	<b>% RSD</b>	<b>0,83</b>		<b>% RSD</b>	<b>% RSD</b>	<b>2,71</b>
150%	Répétition 1	96,59	150%	Répétition 1	94,02	
	Répétition 2	95,36		Répétition 2	91,55	
	Répétition 3	94,46		Répétition 3	94,02	
	<b>Moyenne</b>	<b>95,47</b>		<b>Moyenne</b>	<b>Moyenne</b>	<b>93,19</b>
	<b>Ecart type</b>	<b>1,07</b>		<b>Ecart type</b>	<b>Ecart type</b>	<b>1,43</b>
	<b>% RSD</b>	<b>% RSD</b>		<b>% RSD</b>	<b>% RSD</b>	<b>% RSD</b>
250%	Répétition 1	96,49	150%	Répétition 1	94,43	
	Répétition 2	95,70		Répétition 2	93,59	
	Répétition 3	95,54		Répétition 3	93,70	
	<b>Moyenne</b>	<b>95,91</b>		<b>Moyenne</b>	<b>Moyenne</b>	<b>93,91</b>
	<b>Ecart type</b>	<b>0,51</b>		<b>Ecart type</b>	<b>Ecart type</b>	<b>0,45</b>
	<b>% RSD</b>	<b>0,53</b>		<b>% RSD</b>	<b>% RSD</b>	<b>0,48</b>
<b>Total des trois jours</b>	<b>Moyenne</b>	<b>96,73</b>	<b>Total des trois jours</b>	<b>Moyenne</b>	<b>94,67</b>	
	<b>Ecart type</b>	<b>1,79</b>		<b>Ecart type</b>	<b>1,35</b>	
	<b>% RSD</b>	<b>1,85</b>		<b>% RSD</b>	<b>1,43</b>	

**Discussion :**

- Les coefficients de variation des rendements d'extraction et des taux de recouvrement sont inférieurs à 10%, les rendements retenus sont les moyennes des rendements par répétition.
- **Le rendement d'extraction moyen = 96,73 %** avec un RSD de **1,85%**.
- **Le taux de recouvrement moyen = 94,67%** avec un RSD **1,43%**
- Le taux de recouvrement est > 70% recommandé par la SFSTP et à 50% exigé par la FDA.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

### 2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage de la centrale de pesée

La centrale de pesée est nettoyée après pesée de chaque traceur (physicochimique et microbiologique) et ce, à trois reprises.

Les prélèvements ont été effectués selon le plan défini et le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage et le dénombrement des microorganismes dans les prélèvements par écouvillonnage et dans boîte de contact ont été effectuées. Les résultats obtenus ont été comparés aux limites spécifiées pour chaque traceur.

#### 2.5.1. Inspection visuelle des équipements

Les résultats de l'inspection visuelle des balances et des surfaces de la centrale de pesée sont présentés dans le tableau LXXI.

**Tableau LXXI : Résultats de l'inspection visuelle des balances et des surfaces de la centrale de pesée (Séries : 1, 2 et 3) après pesée du kétoprofène et de l'alginate de sodium matières premières et nettoyage de la centrale de pesée**

Séries (jours)	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
Séries 1, 2 et 3	Plateaux des balances (centre)	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Plateaux des balances (coté)	Non		Conforme
	Table	Non		Conforme
	Murs (proches des balances)	Non		Conforme
	Points de reprise	Non		Conforme

#### 2.5.2. Inspection visuelle des prélèvements

L'aspect des écouvillons est vérifié pour absence des taches ou de particules étrangères.

Les résultats sont présentés dans le tableau LXXII.

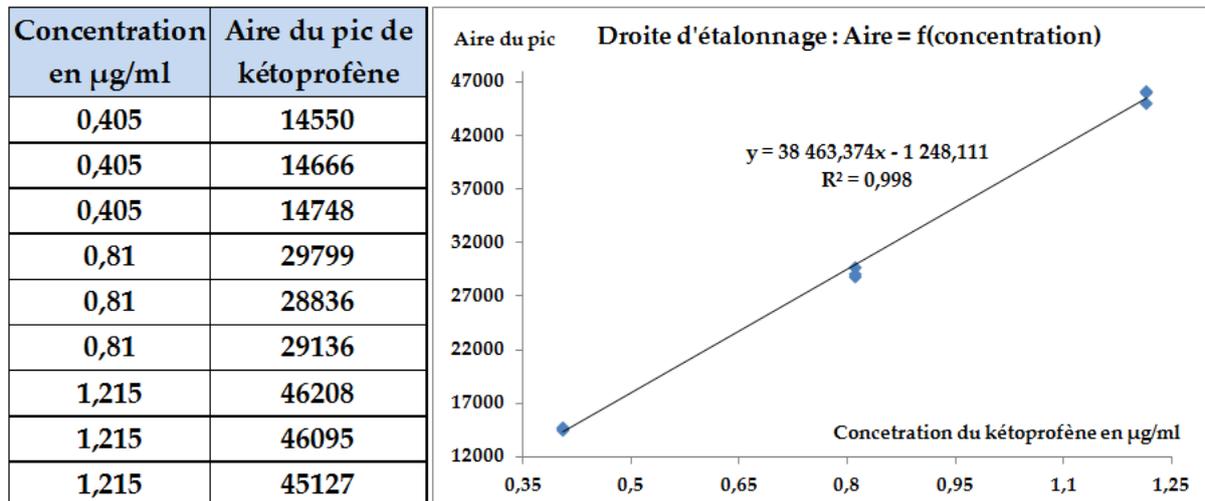
**Tableau LXXII : Résultats de l'inspection visuelle des écouvillons (Séries : 1, 2 et 3) après pesée du kétoprofène et de l'alginate de sodium matières premières et nettoyages de la centrale de pesée**

Séries (jours)	Points prélevés	Présence de taches sur les écouvillons	Norme	Statut
Séries 1, 2 et 3	Plateaux des balances (centre)	Non	Absence de taches visibles sur les écouvillons	Conforme
	Plateaux des balances (coté)	Non		Conforme
	Table	Non		Conforme
	Murs (proches des balances)	Non		Conforme
	Points de reprise	Non		Conforme
	Point de soufflage	Non		Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

**2.5.3. Analyse physicochimique : Dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage.**

**2.5.3.1. Préparation de la gamme d'étalonnage :** Une gamme d'étalonnage comprenant trois niveaux de concentrations a été préparée pour quantifier le kétoprofène dans les échantillons des trois séries. La droite d'étalonnage obtenue est présentée dans la figure 26.



**Figure 26 : Droite d'étalonnage– Aire du pic de kétoprofène = f(concentration), séries1, 2 et 3**

**Note importante :** L'analyse des solutions par HPLC est faite sur une chaîne HPLC de marque Waters.

**2.5.3.2. Dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage**

Les prélèvements par écouvillonnage sont repris à l'intérieur des tubes à vis par 10 ml du solvant d'extraction. Les solutions ainsi obtenues sont injectées dans le chromatographe.

Les concentrations en kétoprofène sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage en tenant compte du taux de recouvrement de 94,67%.

La quantité résiduelle du kétoprofène par unité de surface au niveau des points de prélèvement est donnée par la formule suivante :

$$\text{Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{\text{ech}} + 1248,111)}{0,9467 \times 38463,374} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

Avec :  $A_{\text{ech}}$  est la surface du pic de kétoprofène dans la solution échantillon.

Les résultats obtenus pour les 3 séries sont présentés dans le tableau LXXIII.

Les données brutes sont présentées dans l'annexe I.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE  
LA CENTRALE DE PESEE**

**Tableau LXXIII : Résultats de dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage. Validation du nettoyage de la CDP (séries : 1, 2 et 3)**

Séries	Surfaces prélevées	Aire du pic de kétoprofène	Quantité résiduelle du kétoprofène en $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$	Norme ( $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$ )	Statut du nettoyage
<b>Série 01</b> (1 <sup>ère</sup> reprise de nettoyage)	Plateaux des balances (centre)	1885	0,860	< 8,1 $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$	Conforme
	Plateaux des balances (coté)	560	0,497		Conforme
	Table	2592	1,055		Conforme
	Murs (proches des balances)	18352	5,383		Conforme
	Points de reprise	NA	NA		Conforme
	Point de soufflage	9540	2,963		Conforme
<b>Série 02</b> (2 <sup>ème</sup> reprise de nettoyage)	Plateaux des balances (centre)	19906	5,809	< 8,1 $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$	Conforme
	Plateaux des balances (coté)	28226	8,094		Conforme
	Table	588	0,504		Conforme
	Murs (proches des balances)	15265	4,535		Conforme
	Points de reprise	6917	2,242		Conforme
	Point de soufflage	4873	1,681		Conforme
<b>Série 03</b> (3 <sup>ème</sup> reprise de nettoyage)	Plateaux des balances (centre)	4042	1,453	< 8,1 $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$	Conforme
	Plateaux des balances (coté)	27454	7,882		Conforme
	Table	18889	5,530		Conforme
	Murs (proches des balances)	17343	5,106		Conforme
	Points de reprise	1557	0,770		Conforme
	Point de soufflage	7730	2,466		Conforme

**2.5.4. Analyse microbiologique**

Les résultats des analyses microbiologiques (DGAT, DMLT et recherche des germes spécifiés) dans les prélèvements par écouvillonnage sont présentés dans le tableau LXXIV.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE

**Tableau LXXIV : Dénombrement microbien et recherche des germes spécifiés dans les prélèvements par écouvillonnage et boîtes de contact après pesée de l'alginate de sodium et nettoyage des balances et des surfaces de la centrale de pesée**

Points prélevés		DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
Normes (ufc /100cm <sup>2</sup> )		< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	
Série 01 (jour 1)	Plateaux des balances (centre)	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Plateaux des balances (coté)	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Table	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Murs (proches des balances)	200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Points de reprise	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Point de soufflage	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
Série 01 (jour 2)	Plateaux des balances (centre)	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Plateaux des balances (coté)	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Table	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Murs (proches des balances)	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Points de reprise	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Point de soufflage	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
Série 01 (jour 3)	Plateaux des balances (centre)	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Plateaux des balances (coté)	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Table	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Murs (proches des balances)	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Points de reprise	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Point de soufflage	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme

### 2.5.5. Discussion

- L'aspect des balances et des surfaces de la centrale de pesée ainsi que celui des prélèvements ne révèlent aucune trace de produits visibles, ce qui atteste de la conformité de ces critères aux spécifications préétablies.
- Les taux résiduels du kétoprofène retrouvés dans les prélèvements par écouvillonnage après pesée à trois reprises de la matière première kétoprofène sont inférieurs à la limite d'acceptation et ce, pour chaque point prélevé de la centrale de pesée, ce qui atteste de la validité du nettoyage de la centrale de pesée de point de vue physicochimique.
- Après pesée à trois reprises de la matière première alginate de sodium, le nombre de microorganismes (DGAT + DMLT et recherche des germes spécifiés) retrouvés dans les prélèvements sont conformes aux limites préétablies. Le nettoyage de la centrale de pesée est donc valide de point de vue microbiologique.

### 3. Conclusion

La centrale de pesée est le premier endroit où peut être contaminée une matière première pharmaceutique, du fait que l'ensemble des matières premières utilisées par une entreprise pharmaceutique pour la fabrication des médicaments sont pesées dans cet endroit. La validation du nettoyage d'une centrale de pesée se révèle donc d'une importance capitale car il participe à la lutte contre la contamination croisée.

Dans ce travail, **nous avons développé une approche** pour le choix des traceurs physicochimiques et microbiologiques en se basant sur des travaux scientifiques antérieurs. Cette approche repose sur des critères physicochimiques et toxicologiques pour le premier type et en tenant compte des limites spécifiées pour le second type. Une échelle pour la cotation de chaque critère est établie et un score final est calculé. Un traceur correspond à la **matière première ayant obtenu le score le plus élevé.**

Pour le dosage du kétoprofène à l'état de traces, une méthode par HPLC est optimisée au Laboratoire de Chimie Analytique du Département de Pharmacie de Tizi Ouzou en collaboration avec le Laboratoire de Contrôle qualité de Biopharm industrie, la méthode est validée en second lieu selon la méthodologie harmonisée proposée par une commission de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques, publié dans la revue pharmaceutique STP pharmaceutique parue en janvier 2006. La limite inférieure de quantification de cette méthode est de **0,207 µg/ml**, valeur largement inférieure à la limite d'acceptation correspondant à **0,81 µg/ml**. La méthode ainsi proposée et pour des raisons de conformité avec les normes qualité de l'industrie pharmaceutique est aussi validée au niveau du LCQ de Biopharm industrie selon la procédure interne de validation des méthodes analytiques.

Les rendements d'extraction et les taux de recouvrements du prélèvement par écouvillonnage en vue de l'analyse physicochimique sont déterminés sur une gamme de cinq (05) niveaux de concentrations ;

Le rendement d'extraction moyen est égal à 96,73 % avec un RSD de 1,85%.

Le taux de recouvrement moyen est égal à 94,67% avec un RSD de 1,43%.

Le taux de recouvrement moyen est supérieur à 70% recommandé par la SFSTP et à 50% exigé par la FDA.

Un plan de prélèvements a été établi et les points critiques de la centrale de pesée ont été définis. Deux modes de prélèvement ont été utilisés à savoir, le prélèvement par écouvillonnage (pour analyse physicochimique et microbiologique) et par boîte de contact (pour analyse microbiologique).

## **PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE I : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA CENTRALE DE PESEE**

La reproductibilité de l'efficacité du procédé de nettoyage à été démontrée à trois reprises, après pesées du kétoprofène et de l'alginate de sodium matières premières. Tous les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques et microbiologiques ont été conformes aux limites d'acceptation.

**Le nettoyage de la centrale de pesée de Biopharm industrie est donc valide selon la stratégie des pires cas.**

# **CHAPITRE II**

## **VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL

Le présent chapitre a pour objet de documenter la méthodologie et les résultats de la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel de Biopharm industrie. Le protocole de validation proposé fait référence aux exigences réglementaires et de qualité des BPF, à la littérature scientifique et à la politique qualité de l'entreprise.

### 1. Matériel et méthodes

#### 1.1. Matériel

##### 1.1.1. Description de la ligne crème et gel

La ligne crème et gel de Biopharm industrie est composée de deux ateliers ;

- Atelier de préparation comprenant les équipements suivants :
  - Une cuve aqueuse (dans laquelle sont préparées les phases aqueuses des gels et des crèmes).
  - Une cuve huileuse (dans laquelle sont préparées les phases huileuses des pommades et des crèmes).
  - Une cuve de préparation (de mélange) d'une capacité allant jusqu'à 600 Kg.
- Un atelier de conditionnement primaire comprenant les équipements suivants :
  - Une cuve de stockage (ou de transfert).
  - Une remplisseuse (trémie + Kit de dosage).

Le produit semi-fini est transféré de l'atelier de préparation vers la cuve de stockage puis de la cuve de stockage vers la remplisseuse à l'aide des pompes et des canalisations (flexibles).

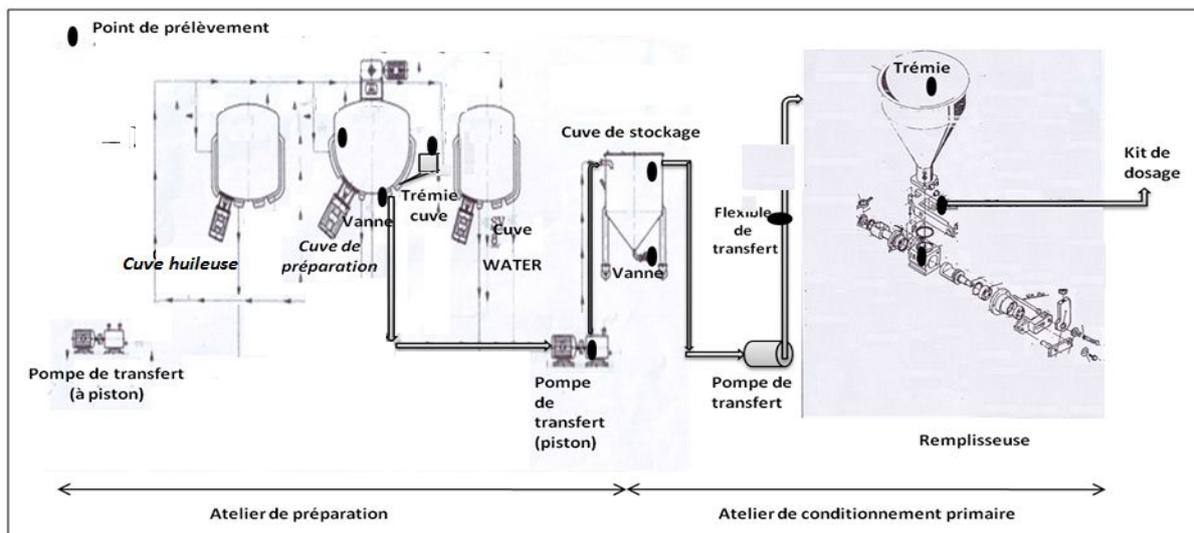


Figure 27 : Schéma de la ligne crème et gel

##### 1.1.2. Gamme de production de la ligne crème et gel

Sur la ligne de fabrication objet d'étude, sont fabriqués des médicaments de diverses classes thérapeutiques sous formes de pommades, de crèmes et de gels.

Le tableau LXXV énumère les différents produits fabriqués sur la ligne crème et gel et leurs classes thérapeutiques.

**Tableau LXXV : Gamme de production de la ligne crème et gel**

N	Nom commercial	Nom du principe actif (DCI)	Forme galénique	Dosage	Classe thérapeutique
1	<b>Biofenac®</b>	Diclofenac de sodium	Gel	1%	Anti-inflammatoire Non Stéroïdien
2	<b>Celetasone®</b>	Betamethasone dipropionate	crème	0,05%	Anti-inflammatoire Stéroïdien
3	<b>Clotasol ®</b>	Clobetasol propionate	crème	0,05%	Anti-inflammatoire Stéroïdien
4	<b>Clotasol ®</b>	Clobetasol propionate	Gel	0,05%	Anti-inflammatoire Stéroïdien
6	<b>Fenoxam ®</b>	Piroxicam	Gel	0,50%	Anti-inflammatoire Non Stéroïdien
7	<b>Fucidine ®</b>	Acide fusidique	crème	2%	Antibiotique
8	<b>Fucidine ®</b>	Fusidate de sodium	pommade	2%	Antibiotique
9	<b>Profenid®</b>	Kétoprofène	Gel	2,50%	Anti-inflammatoire Non Stéroïdien
10	<b>Terbinan®</b>	Terbinafine HCl	crème	1%	Fongicide

**Remarque :** Nous avons listé dans le tableau LXXV uniquement les produits commercialisés, les autres qui sont en cours de développement ne sont pas cités pour des raisons de confidentialité. Cette restriction n'a pas eu d'impact ni sur le choix des traceurs ni sur la détermination des limites d'acceptation.

### 1.1.3. Matériel de contrôle

Etant donné que le traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la ligne crème et gel est le **kétoprofène**, le matériel de contrôle utilisé dans le présent chapitre est le même que celui utilisé pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée.

### 1.2. Méthodes

Les étapes de validation du nettoyage de la ligne crème et gel selon l'approche pires cas sont identiques à celles observées pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée à savoir ;

- Choix du traceur.
- Détermination des critères d'acceptation.
- Validation de la méthode de dosage du contaminant à l'état de traces.
- Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.
- Reproductibilité du procédé de nettoyage.

### **1.2.1. Choix du traceur**

#### **1.2.1.1. Choix du traceur physicochimique**

Dans le présent travail, le choix du traceur physicochimique est fait selon les deux approches, traditionnelle et la nouvelle reposant sur la PDE.

#### **A. Approche traditionnelle**

Selon l'approche traditionnelle, le choix du **produit pire cas** repose sur les critères de solubilité, de nettoyabilité et de toxicité tel qu'est recommandé par les BPF européennes.

Afin de déterminer le produit pire cas, chacun des critères précédents est coté d'un coefficient, une échelle est définie pour chaque critère.

#### **A.1. Echelle de solubilité**

Pour chaque terme retenu par la pharmacopée européenne pour le critère solubilité défini dans le tableau VII, un coefficient est attribué et une échelle de nettoyabilité est établie suivant le tableau LXXVI.

**Tableau LXXVI : Echelle de solubilité pour le choix du traceur physicochimique**

<b>Termes descriptifs de la solubilité</b>	<b>Coefficient</b>
Très soluble	<b>1</b>
Facilement soluble	<b>2</b>
Soluble	<b>3</b>
Assez soluble	<b>4</b>
Peu Soluble	<b>5</b>
Très peu soluble	<b>6</b>
Pratiquement insoluble	<b>7</b>

#### **A.2. Echelle de nettoyabilité**

L'échelle de nettoyabilité retenue est celle décrite dans le tableau XXXII du présent manuscrit.

**Note :** Au niveau du laboratoire de contrôle qualité, des simulations de nettoyage peuvent être effectuées en contaminant un récipient du même design que celui des équipements par une quantité bien déterminée du médicament (En respectant le ratio taille du lot/ dimensions de l'équipement), une procédure miniaturisée du nettoyage est appliquée à un (01) ou à plusieurs cycles jusqu' à l'absence des traces visibles du produit en question. En fonction **du nombre de cycles** appliqués pour obtenir la propreté de l'équipement, on décrit les critères de nettoyabilité définis dans le tableau XXXII (nombre de cycles = indice de nettoyabilité).

#### **A.3. Echelle de toxicité**

L'échelle de toxicité choisie est celle définie dans le tableau XXXIII du présent manuscrit.

#### **A.4. Critères de décision**

Le choix d'un produit pire cas (appelé aussi **worst case**) en fonction des données de solubilité, de nettoyabilité et de toxicité peut se faire suivant deux (02) démarches ;

- **Démarche qualitative** : La priorité aux critères de sélection est attribuée selon l'ordre décroissant : **Solubilité** > **Nettoyabilité** > **Toxicité**. Parmi tous les produits d'une gamme, fabriqués sur une ligne de production, nous nous intéressons d'abord aux produits les plus insolubles, puis les plus difficiles à nettoyer et en fin le plus toxique. Le logigramme de la figure 28 illustre cette démarche.

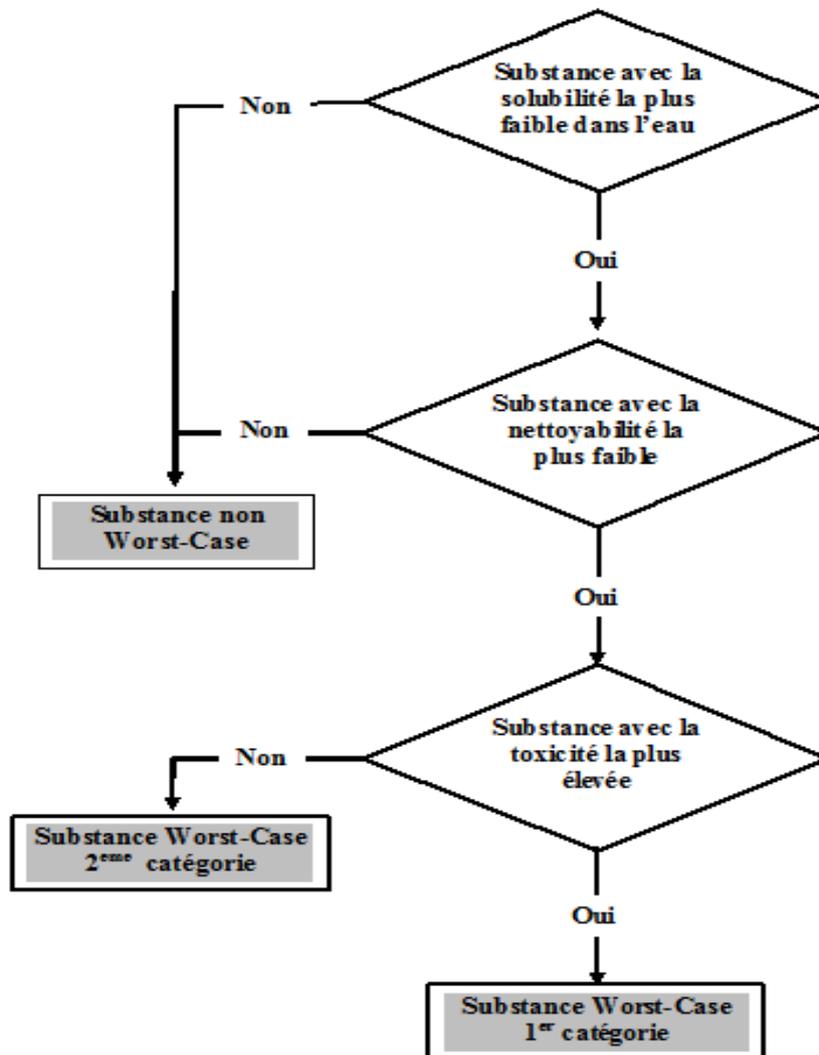


Figure 28 : Démarche qualitative pour le choix du traceur (produit pire cas) physicochimique selon l'approche traditionnelle

- **Démarche quantitative** : Le produit des différents indices est calculé, le produit **pire cas** correspond au produit ayant obtenu le **score le plus élevé**. Le tableau LXXVII résume la démarche quantitative pour le choix d'un traceur physicochimique.

**Tableau LXXVII : Démarche quantitative pour le choix du traceur physicochimique**

Produits	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité	Score
001				
002				
.....				
N				

Note :

- En cas d'égalité des scores entre deux ou plusieurs produits, la priorité des critères observée pour la démarche qualitative sera suivie.
- Dans le présent travail, c'est la démarche quantitative qui est utilisée pour le choix du traceur physicochimique.

Le traceur physicochimique selon l'approche traditionnelle retenu pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel est le **kétoprofène**, principe actif du produit fini **Profenid® gel 2,5%**. Les résultats sont présentés dans les tableaux LXXXIV et LXXXV de la partie résultats et discussion.

#### B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE

Dans la nouvelle approche basée sur le risque santé du patient et l'établissement des doses journalières admissibles (**Permitted Daily Exposure - PDE**), les critères de sélections d'un traceur sont identiques à ceux de l'approche traditionnelle, **la différence réside dans l'évaluation de la toxicité** d'une substance. La notion de toxicité est remplacé par celle de "**la dangerosité**".

Le tableau LXXVIII donne une échelle de toxicité (dangerosité) en fonction des valeurs de PDE.

**Tableau LXXVIII : Echelle de toxicité (dangerosité) basée sur les valeurs de PDE**

PDE par voie orale (µg/jour)	Coefficient attribué
≤ 1,5	6
] 1,5 – 10 [	5
[10 – 100 [	4
[100 – 1000 [	3
[1000 – 10000 [	2
≥ 10000	1

De façon analogue à l'approche traditionnelle, le choix d'un produit pire cas repose sur les données de solubilité, nettoyabilité et de **toxicité (dangerosité)** selon les deux démarches qualitative et quantitative ;

- **Démarche qualitative** : La priorité aux critères de sélection est donnée selon l'ordre décroissant ; **Toxicité (dangerosité) > Solubilité > Nettoyabilité**. Nous nous intéressons donc dans un premier lieu aux substances ayant la **PDE la plus faibles**, puis les plus insolubles, et en fin les plus difficiles à nettoyer. Le logigramme de la figure 29 illustre cette démarche.

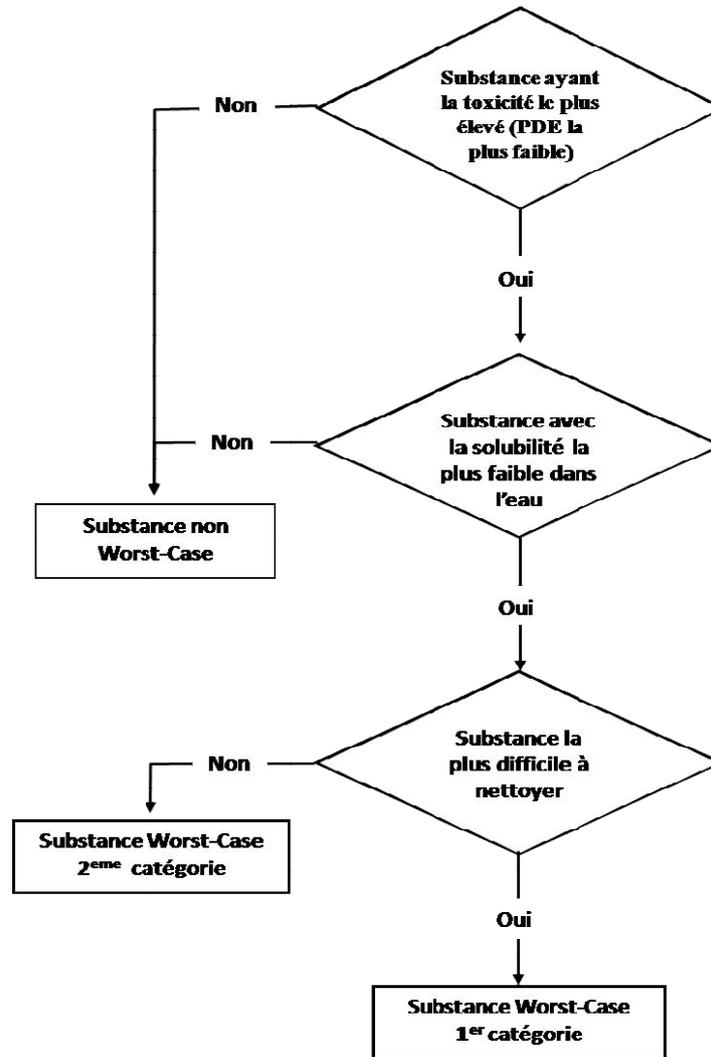


Figure 29 : Démarche qualitative pour choix du traceur (produit pires cas) physicochimique selon l'approche PDE

- **Démarche quantitative** : Le produit des différents indices est calculé, le produit **pire cas** correspond au à celui ayant obtenu le **score le plus élevé**. Le tableau LXXIX résume la démarche quantitative du choix du physicochimique.

Tableau LXXIX : Démarche quantitative pour choix d'un traceur en vue d'une analyse physicochimique selon l'approche PDE

Produits	Toxicité (PDE)	Solubilité	Nettoyabilité	Score
001				
002				
.....				
N				

**Note** : En cas d'égalité des scores entre deux ou plusieurs produits, la priorité des critères est donnée à la toxicité (dangerosité) du produit, puis la solubilité et en fin à la nettoyabilité.

D'après Le tableau LXXIX et en tenant compte des valeurs des PDE calculées (**données internes établies dans le cadre de la présente thèse**), les principes actifs des produits fabriqués sur la ligne crème et gel ont les coefficients suivants ;

- Valeur de PDE comprise entre 1,5 – 10 µg/jour (coefficient = 5) : on retrouve le clobetasol propionate.
- Valeurs de PDE comprises entre 10 – 100 µg/jour (coefficient = 4) : on retrouve ; le kétoprofène, le piroxicam, le diclofenac de sodium, et la betaméthasone dipropionate.
- Valeur de PDE comprise entre 100 – 1000 µg/jour (coefficient = 3) : on retrouve ; la terbinafine chlorhydrate.
- Valeurs de PDE > 10 g/jour (coefficient = 1) : on retrouve l'acide fusidique et le fusidate de sodium.

D'après les résultats présentés dans le tableau LXXXVI, le **kétoprofène** est choisi comme traceur physicochimique.

#### **1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique**

Les critères de sélection retenus pour le choix du traceur en vue d'une analyse microbiologique sont les suivants ;

➤ **Dénombrement microbien (indice de DGAT + indice de DMLT),**

Pour le dénombrement microbien, les échelles de DGAT et de DMLT retenues sont celles décrites dans les tableaux XXXVI et XXXVIII du chapitre I relatif à la validation du nettoyage de la centrale de pesée.

➤ **Présence ou absence des agents antimicrobiens**

Un agent antimicrobien (conservateur) lutte contre la prolifération microbienne d'une contamination, sa présence dans une formulation d'un médicament peut inhiber la croissance des microorganismes.

- Si absence d'agent antimicrobien : un coefficient 3 est attribué
- Si présence d'un seul agent antimicrobien : un coefficient 2 est attribué
- Si présence de deux agents antimicrobiens ou plus : un coefficient 1 est attribué

➤ **Nettoyabilité.**

➤ L'échelle de nettoyabilité dans le cadre de l'analyse microbiologique est la même que celle retenue pour la détermination du traceur en vue d'une analyse physicochimique.

➤ **Critères de décision**

De façon similaire aux démarches suivies pour la sélection d'un produit pire cas en vue d'une analyse physicochimique, deux démarches peuvent être adoptées pour l'analyse microbiologique.

**D.a. Démarche qualitative :** La priorité aux critères de sélection est donnée selon l'ordre décroissant, **Limite d'acceptation > Nettoyabilité > Présence ou non d'un agent antimicrobien**. Parmi tous les produits d'une gamme fabriqués sur une ligne de production, nous nous intéressons d'abord aux produits ayant l'indice des limites d'acceptation les plus élevées, puis les plus difficiles à nettoyer et en fin ceux

dépourvues d'une activité antimicrobienne. Le logigramme de la figure 30 illustre cette démarche.

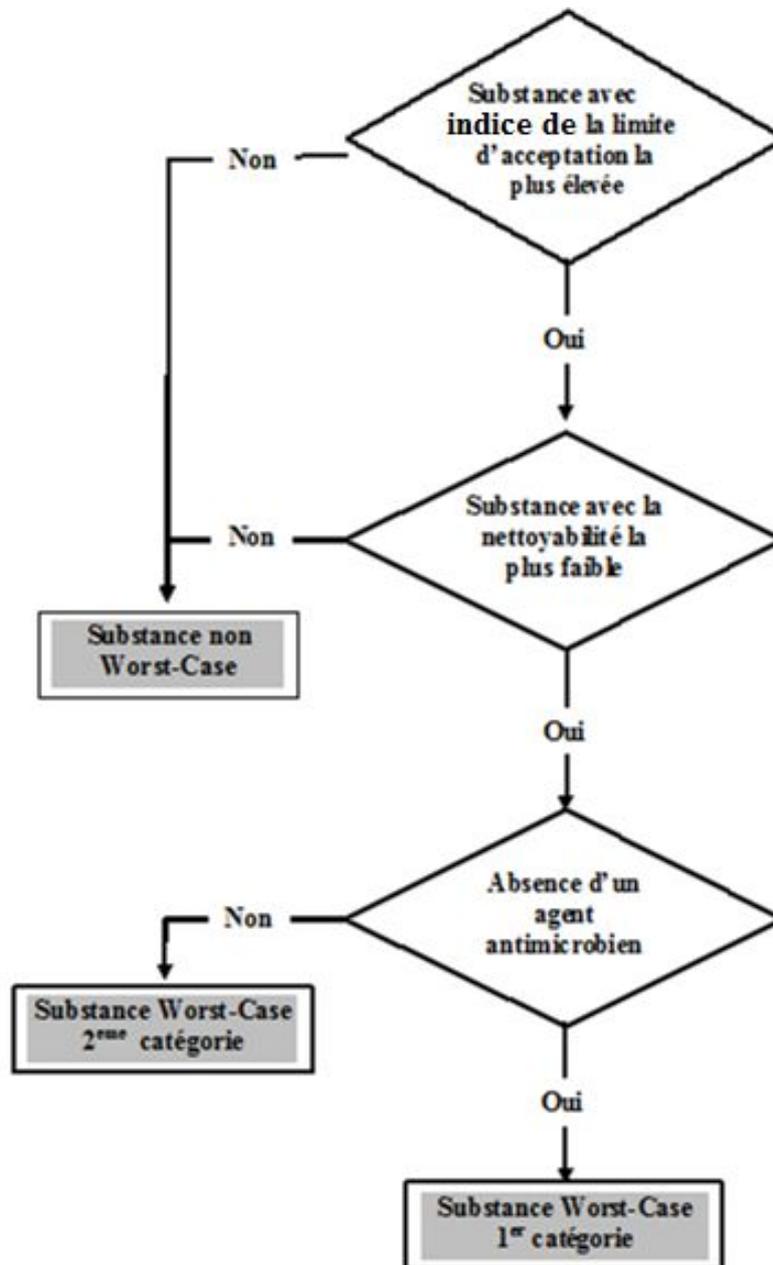


Figure 30 : Démarche qualitative pour le choix du traceur (produit pires cas) microbiologique

**D.b. Démarche quantitative :** Le produit des différents indices est calculé, le produit pire cas correspond à celui ayant obtenu le score le plus élevé.

La formule de calcul utilisée s'exprime comme suit :

$$\text{Score} = (\text{indice de DGAT} + \text{Indice de DMLT}) \times \text{Indice de nettoyabilité} \times \text{indice de présence ou de l'absence d'un agent antimicrobien}$$

Le tableau LXXX résume la démarche quantitative pour le choix du traceur microbiologique.

**Tableau LXXX : Démarche quantitative pour le choix du traceur microbiologique**

Produits	Somme des indices des Limites d'acceptation	Nettoyabilité	Absence ou présence d'un agent antimicrobien	Score
001				
002				
.....				
N				

**Note :** En cas d'égalité des scores entre deux ou plusieurs produits, la priorité des critères observée pour la démarche qualitative est suivie.

Etant donnée que les limites pour le dénombrement microbien sont les mêmes (DGAT = 100 et DMLT = 10 ufc/100cm<sup>2</sup>) pour tous les produits fabriqués sur la même ligne (car ils sont destinés à la même voie d'administration (cutanée)) et aucun produit ne contient un agent antimicrobien. **Le seul critère de sélection qui varie entre les produits est la nettoyabilité.**

Le traceur retenu est le **Profenid® gel 2,5%** car c'est le produit ayant le coefficient de nettoyabilité le plus élevé (très difficile à nettoyer).

### 1.2.2. Etablissement des critères d'acceptation

#### 1.2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique

##### A. Approche traditionnelle

La limite d'acceptation selon l'approche traditionnelle est l'ARL (Acceptable Residual Level) ou Limite résiduelle acceptée, elle est calculée pour chaque type de prélèvement.

- **Pour le prélèvement par écouvillonnage :** La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante ;

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{MAR \times L_B \times A_S \times 10^3}{W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$

$$MAR = \frac{T_A \times F_S \times 10^6}{T_B} \text{ en ppm}$$

- **MAR (Maximum Allowable Residual) :** Chiffre la contamination du produit B par un produit A en tenant compte de la voie d'administration (Facteur de sécurité F<sub>s</sub> associé), il est exprimé en partie par million (multiplication par 10<sup>6</sup>). Si MAR > 10, sa valeur est arrondie à 10.
- T<sub>A</sub> : dose journalière minimale du produit précédent (contaminant) A en mg/jour.
- T<sub>B</sub> : dose journalière maximale du produit suivant (contaminé) B en mg/jour.
- A<sub>s</sub> : surface prélevée en m<sup>2</sup> (souvent A<sub>s</sub> = 100 cm<sup>2</sup> = 0,01 m<sup>2</sup>).
- W<sub>s</sub> : Surface de contact commune entre le produit A et le produit B en m<sup>2</sup>.
- F<sub>s</sub> : Facteur de sécurité.

- Pour le prélèvement par les eaux de rinçage : La limite résiduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rinçage est donnée par la formule suivante ;

$$ARL_{Eaux\ de\ rin\cage} = \frac{MAR \times L_B}{V} \text{ en } \mu\text{g/ml}$$

V : Volume d'eau de rinçage en litre utilisé pour le rinçage final.

### B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE

La limite d'acceptation faisant appel à l'approche PDE, repose sur l'hypothèse que la contamination maximale tolérée n'entraînant aucun effet néfaste à la santé humaine peut être retrouvée dans la dose journalière maximale du produit contaminé soit une dose  $T_B$  en mg.

La quantité résiduelle par unité de surface est calculée comme suit ;

- Pour le prélèvement par écouvillonnage

$$ARL_{Ecouvillonnage} = \frac{PDE_A \times L_B \times A_S \times 10^6}{L_B \times W_S} \mu\text{g}/\text{écouvillon}$$

$PDE_A$  : La plus faible valeur des PDE calculées pour les produits fabriqués sur la ligne crème et gel.

- Pour le prélèvement par les eaux de rinçage

$$ARL_{Eaux\ de\ rin\cage} = \frac{PDE_A \times L_B \times 10^3}{V} \mu\text{g/ml}$$

V : Volume des eaux de rinçage en litre, utilisé pour le rinçage final.

**La limite la plus faible calculée par les deux approches sera retenue pour la validation du nettoyage de la ligne crème et gel.**

#### 1.2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique

Le dénombrement microbien DGAT et DMLT doit répondre aux normes suivantes (normes internes) ;

- Prélèvement par écouvillonnage : DGAT + DMLT < 200 ufc/100 cm<sup>2</sup>.
- Prélèvement par les eaux de rinçage : DGAT + DMLT < 10<sup>4</sup> ufc / 100 ml.

Pour la recherche des germes spécifiés, deux germes sont concernés : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. **Aucune colonie ne doit être retrouvée** dans les prélèvements.

### 1.3. Méthodes d'analyse

#### 1.3.1. Méthode d'analyse physicochimique du kétoprofène

Le kétoprofène est un traceur physicochimique commun pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée et de la ligne de fabrication des formes crème et gel.

La méthode de dosage du kétoprofène à l'état de traces est validée au laboratoire de contrôle qualité, le protocole de validation est établie selon la procédure de validation des méthodes d'analyse. Ce protocole est adapté à la limite d'acceptation de la ligne crème et gel.

**1.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques**

Les méthodes d'analyse microbiologique rencontrées dans le cadre de la validation du nettoyage de la ligne crème et gel sont les mêmes que celles utilisées dans la validation du nettoyage de la centrale de pesée.

**1.3.3. Méthode de recherche des traces du détergent**

La recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage se fait selon une méthode validée par le fournisseur.

Le détergent utilisé dans le nettoyage de la ligne crème et gel contient un **agent tensioactif**, des agents bactéricides et fongicides. La recherche de traces du détergent se fait par méthode colorimétrique.

**1.3.3.1. Principe :** Recherche de traces d'amine tertiaire en milieu biphasique et en présence d'une solution de bleu de bromophénol tamponnée, utilisée comme indicateur. Il s'agit d'une extraction par formation de paires d'ions (ion bromophénol + Ammonium tertiaire), le pH 5,6 est requiert pour la stabilité de la paire d'ions.

**1.3.3.2. Réactifs :**

- Indicateur coloré : solution de bleu de bromophénol tamponnée à pH 5,6.
- Chloroforme pour analyse

**1.3.3.3. Mode et conditions opératoires**

**Tableau LXXXI : Mode et conditions opératoires de la recherche des traces de détergent dans les eaux de rinçage [154].**

	<b>Tube A = témoin</b>	<b>Tube B = échantillon</b>	<b>Tube C= étalon</b>
Chloroforme	2 ml	2 ml	2 ml
Indicateur coloré	1 ml	1 ml	1 ml
Eau purifiée	10 ml	0 ml	0 ml
Eau de rinçage	0 ml	10 ml	10 ml
Témoin 4 ppm	0 ml	10 ml	10 ml

Agiter bien les tubes puis les laisser reposer.

**1.3.3.4. Interprétation des résultats**

L'observation doit être faite sur fond blanc et par rapport au témoin.

**Tableau LXXXII : Interprétation des résultats de la méthode de recherche des traces de détergent dans les eaux de rinçage [154].**

<b>Tubes</b>	<b>Tube A= témoin</b>	<b>Tube C= étalon</b>
<b>Coloration phase supérieure</b>	Violette	Grise
<b>Coloration phase inférieure</b>	Aucune	Bleu
<b>Anneau d'émulsion</b> (plus ou moins visible selon la concentration en tensioactif)	Aucun	Gris-bleu

**1.3.3.5. Critère d'acceptation**

La coloration du tube **B** doit être identique a celle du tube **A**.

Seuil de détection = **4 ppm** en matière active.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**1.4. Détermination du taux de recouvrement du kétoprofène pour le prélèvement par écouvillonnage.**

Pour les mêmes raisons citées pour la méthode de dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage, la méthode de prélèvement du kétoprofène validée dans le cadre de la validation du nettoyage de la centrale de pesée est utilisée, elle est revalidée et adaptée à la limite d'acceptation de la ligne crème et gel.

**1.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage**

**1.5.1. Méthode de nettoyage**

- Le nettoyage des équipements de la ligne crème et gel a été réalisé à l'aide d'une solution aqueuse et chaude d'un détergent à base d'une amine tertiaire dosée à 2% soit par circulation (cuves ; pompes et canalisations) ou par trempage pour les parties démontables (kit de dosage, trémies).
- Le rinçage final se fait avec l'eau purifiée. Le volume total du rinçage final est de 45 litres.

**1.5.2. Plan de prélèvements**

Le choix des points de prélèvement pour analyses physicochimique et microbiologique est porté sur les équipements et endroits suivantes ;

- Cuve de préparation (Hauteur de la cuve + Vanne inférieur).
- Trémie de la cuve de préparation (introduction des matières premières).
- Cuve de stockage (Hauteur de la cuve + Vanne inférieur).
- Pompe de transfert.
- Flexibles de transfert (dédiés par produit).
- Trémie de la remplisseuse.
- Bloc et kit du dosage de la remplisseuse.

**Tableau LXXXIII : Plan de prélèvements au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel**

Equipements	Point critique de l'équipement	Prélèvement physicochimique		Prélèvement microbiologique	
		Eau de rinçage	Ecouvillonnage	Eau de rinçage	Ecouvillonnage
Cuve de préparation	-Haut de cuve -Vanne inferieur	√	√	√	√
Trémie de la de cuve de préparation	-Coté latéral -Sortie de la trémie – Conduit L	√	√	√	√
Cuve de stockage	-Haut de cuve -Vanne inferieur	√	√	√	√
Pompe de transfert	-Raccord de connections	√	√	√	√
Flexibles	-Paroi interne	√	√	√	√
Trémie de la remplisseuse	-Coté latéral -Sortie de la trémie	√	√	√	√
Système de dosage	-Bloc -Kit de dosage	√	√	√	√

### **1.5.3. Critères d'acceptation**

#### **1.5.3.1. Critères visuels**

- **Aspect des équipements** : L'inspection visuelle des équipements après nettoyage, ne doit retrouver aucune trace visible de produit à l'œil nu.
- **Aspect des prélèvements** : Les écouvillons et les eaux de rinçage après prélèvements doivent garder leurs aspects initiaux (absence de tache ou de particules visibles à l'œil nu, pas de changement de l'aspect du prélèvement).

**1.5.3.2. Critères d'acceptation pour l'analyse physicochimique** : Après fabrication du Profenid® gel 2,5% et nettoyage des équipements de la ligne crème et gel, les taux résiduels dans les prélèvements par écouvillonnage doivent être inférieurs à 14,7 µg/100 cm<sup>2</sup> et à 0,55 µg/ml dans les eaux de rinçage.

**1.5.3.3. Critères d'acceptation pour l'analyse microbiologique** : Après fabrication du Profenid® gel 2,5% et nettoyage des équipements de la ligne crème et gel, le dénombrement microbien DGAT et DMLT doit être respectivement inférieurs à 200 ufc/100 cm<sup>2</sup> pour les prélèvements par écouvillonnage et inférieur à 10000 ufc/100 ml dans les eaux de rinçage.

Pour la recherche des germes spécifiés : Deux germes sont concernés, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Aucune colonie ne doit être retrouvée dans les prélèvements.

## **2. Résultats et discussion**

### **2.1. Choix du traceur**

#### **2.1.1. Choix du traceur physicochimique**

##### **2.1.1.1. Approche traditionnelle**

La base de données et la cotation des critères pour le choix du traceur physicochimique sont présentées dans les tableaux LXXXIV et LXXXV.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau LXXXIV : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel – base de données**

Produit	principe actif	Solubilité (eau)	Nettoyabilité	Toxicité (DL50)
Biofenac® gel	Diclofenac de sodium	Assez soluble	Difficile	53 mg/kg (rat)
Celetasone® crème	Betamethasone dipropionate	Pratiquement insoluble	Difficile	4g/kg (rat)
Clotasol ® crème	Clobetasol propionate	Pratiquement insoluble	Facile	3 g/kg (rat)
Clotasol ® gel	Clobetasol propionate	Pratiquement insoluble	Moyenne	3 g/kg (rat)
Fenoxam® pommade	Piroxicam	Pratiquement insoluble	Facile	216 mg/kg (rat)
Fucidine ® crème	Acide fusidique	Pratiquement insoluble	Facile	2263 mg/kg (rat) 975
Fucidine ® pommade	Fusidate de sodium	Facilement soluble	Facile	975 mg/kg (souris)
Profenid® gel	Kétoprofène	Pratiquement insoluble	Très difficile	62,4 mg/kg (rat)
Terbinan®	Terbinafine Chlorhydrate	Peu soluble	Facile	2000 mg/kg (rat)

**Tableau LXXXV : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel selon l'approche traditionnelle- cotation des critères**

Produit	Principe actif	Solubilité (eau)	Nettoyabilité	Toxicité (DL50)	Score
Biofenac® gel	Diclofenac de sodium	4	3	4	48
Celetasone® crème	Betamethasone dipropionate	7	3	2	42
Clotasol ® crème	Clobetasol propionate	7	1	2	14
Clotasol ® gel	Clobetasol propionate	7	2	2	28
Fenoxam® pommade	Piroxicam	7	1	4	28
Fucidine ® crème	Acide fusidique	7	1	2	14
Fucidine ® pommade	Fusidate de sodium	2	1	3	6
Profenid® gel	Kétoprofène	7	4	4	112
Terbinan®	Terbinafine Chlorhydrate	5	1	2	10

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Discussion :**

Les résultats obtenus donnent pour le kétoprofène le score le plus élevé (valeur = 112). Le kétoprofène principe actif du Profenid® gel 2,5% est choisie comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel selon l'approche traditionnelle.

Note : Les références consultées pour les valeurs de DL50 des principes actifs de la ligne crème et gel sont les mêmes que celles consultées pour la CDP.

**2.1.1.2. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE**

Les cotations des critères pour le choix du traceur physicochimique selon l'approche PDE sont présentées dans le tableau LXXXVI.

**Tableau LXXXVI : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel selon l'approche PDE**

Produit	Principe actif	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité (PDE)	Score
Biofenac® gel	Diclofenac de sodium	4	3	4	48
Celetasone® crème	Betamethasone dipropionate	7	3	4	84
Clotasol ®crème	Clobetasol propionate	7	1	5	35
Clotasol ® gel	Clobetasol propionate	7	2	5	70
Fenoxam® pommade	Piroxicam	7	1	4	28
Fucidine ® crème	Acide fusidique	7	1	1	7
Fucidine ® pommade	Fusidate de sodium	2	1	1	2
Profenid® gel	Kétoprofène	7	4	4	112
Terbinan®	Terbinafine Chlorhydrate	5	1	3	15

**Discussion :**

Les résultats obtenus donnent de même pour le kétoprofène le score le plus élevé (valeur = 112). Le kétoprofène principe actif du Profenid® gel 2,5% est choisie comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel selon l'approche PDE.

**Selon les deux approches, Le kétoprofène principe actif du Profenid® gel 2,5% est choisi comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel**

### 2.1.2. Choix du traceur microbiologique

Comme indiqué dans le titre 1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique, le traceur retenu est le **Profenid® gel 2,5%** car c'est le produit ayant le coefficient de nettoyabilité le plus élevé (très difficile à nettoyer).

## 2.2. Etablissement des critères d'acceptation

### 2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique

#### 2.2.1.1. Approche traditionnelle

La limite d'acceptation selon l'approche traditionnelle est l'ARL calculée comme suit ;

– Pour le prélèvement par écouvillonnage,

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{MAR \times L_B \times A_S \times 10^3}{W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$

$$MAR = \frac{T_A \times F_S \times 10^6}{T_B} \text{ en ppm}$$

- MAR (Maximum Allowable Residual) : Chiffre la contamination du produit B par un produit A en tenant compte de la voie d'administration (Facteur de sécurité  $F_S$  associé), il est exprimé en partie par million (multiplication par  $10^6$ ). Si  $MAR > 10$  sa valeur est arrondie à 10.
- $T_A$  : dose journalière minimale du produit précédent (contaminant) A en mg/jour.
- $T_B$  : dose journalière maximale du produit suivant (contaminé) B en mg/jour.

Les doses journalières  $T_A$  et  $T_B$  sont calculées pour chaque produit tenant compte du dosage, de la posologie et des pathologies traitées. Le tableau LXXXVII documente les valeurs de  $T_A$  et  $T_B$  des produits de la ligne crème et gel.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau LXXXVII : Valeurs de T<sub>A</sub> et T<sub>B</sub> des produits de la ligne crème et gel**

Produits	Principes actifs	Dosage g/100g	Dosage mg/g	T <sub>A</sub> : Dose minimale (par 0.125g de produit appliqué sur 0.01m <sup>2</sup> )	Pathologie nécessitant le maximum d'application (1)	Surface Corporelle Maximale traitée	Quantité Maximale Du principe Actif appliquée En une seule Prise (en mg)	Nombre Maximal D'application par jour (1)	T <sub>B</sub> : Dose Journalière maximale du principe actif (en mg)
Clotasol crème	Clobetasol propionate	0.05	0.5	0.0625	Psoriasis de Cuire chevelu	Tête (environ 0.063m <sup>2</sup> )	0.4	2	0.8
Clotasol gel	Clobetasol propionate	0.05	0.5	0.0625	Psoriasis de Cuire chevelu	Tête (environ 0.063)	0.4	2	0.8
Biofenac gel	Diclofenac de sodium	1	10	1.25	Œdèmes Post-traumatique	Reds + Mains + Visage (environ 1 m <sup>2</sup> )	125	4	500
Fenoxam gel	Piroxicam	0.5	5	0.625	Entorses, tendinites	Environ 0.01 m <sup>2</sup>	0.625	4	2.5
Profinid gel	Kétoprofène	2.5	25	3.125	Tendinites	Environ 0.01 m <sup>2</sup>	3.125	2	6.25
Celetasone creme	Betamethasone dipropionate	0.05	0.5	0.0625	Psoriasis	Surface Corporelle (environ 1.73 m <sup>2</sup> )	10.81	2	21.62
Fucidine pommade	Acide fusidique	2	20	2.5	Furonculose	Mains, Visage (environ 0.032 m <sup>2</sup> )	8	2	16
Fucidine creme	Acide fusidique	2	20	2.5	Furonculose	Mains, Visage (environ 0.032 m <sup>2</sup> )	8	2	16
Terbinan creme	Terbinafine Chlorhydrate	1	10	1.25	Candidose, Pityriasis Versicolor, Dermatophyties	Surface Corporelle (environ 1.73 m <sup>2</sup> )	216.25	1	216.25

- A<sub>s</sub> : surface prélevée en m<sup>2</sup> (souvent A<sub>s</sub> = 100 cm<sup>2</sup> = 0,01 m<sup>2</sup>).
- W<sub>s</sub> : Surface commune entre le produit A et le produit B en m<sup>2</sup>.

La surface commune de contact entre les produits est celle de la surface totale de la ligne crème et gel, cette surface est égale à 16,983 m<sup>2</sup>.

- F<sub>s</sub> : Facteur de sécurité = 0,001, en raison de la fabrication de deux antibiotiques sur la ligne crème et gel (Fucidine crème et pommade).
- L<sub>B</sub> : Taille minimale du lot suivant en Kg.

Le tableau LXXXVIII résume les doses minimales et maximales et les tailles des lots des produits fabriqués sur la ligne crème et gel.

(1) : Source des données des posologies, le Vidal en line [155].

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau LXXXVIII : Doses minimales et maximales et les tailles des lots des produits fabriqués sur la ligne crème et gel**

Produit fini	Principe actif	Dose minimal journalière T <sub>A</sub> (mg)	Dose maximal journalière T <sub>B</sub> (mg)	L <sub>B</sub> (kg)
Clotasol crème 0.05%	Clobetasol propionate	0.0625	0.8	600
Clotasol gel 0.05%	Clobetasol propionate	0.0625	0.8	600
Biofenac gel 1%	Diclofenac de sodium	1.25	500	600
Fenoxam gel 0.5%	Piroxicam	0.625	2.5	600
Profenid gel 2.5%	Kétoprofène	3.125	6.25	600
Celetasone crème 0.05%	Betamethasone dipropionate	0.0625	21.62	300
Fucidine pommade 2%	Acide fusidique	2.5	16	600
Fucidine crème 2%	Acide fusidique	2.5	16	500
Terbinan crème 1%	Terbinafine Chlorhydrate	1.25	216.25	200

Le tableau LXXXIX documente le calcul du MAR de la ligne crème et gel pour toutes les combinaisons : produits précédent/ produit suivant.

La valeur minimale du MAR calculée est de 0,125 ppm, cela veut dire que le taux résiduel d'un contaminant toléré est de 0,125 mg dans 1 Kg d'un produit contaminé.

**Tableau LXXXIX : Calcul des MAR Produit précédent – Produit suivant**

Produit précédent	Produit suivant	TA (mg)	TB (mg)	L <sub>B</sub> (Kg)	Ws (m <sup>2</sup> )	MAR (ppm)	MAR corrigé (ppm)
Biofenac gel 1%	Celetasone crème 0.05%	1,25	21,62	300	16,983	57,817	10,000
Biofenac gel 1%	Clotasol (crème, gel) 0.05%	1,25	0,80	600	16,983	1562,500	10,000
Biofenac gel 1%	Fenoxam gel 0.5%	1,25	2,50	600	16,983	500,000	10,000
Biofenac gel 1%	Fucidine crème 2%	1,25	16,00	500	16,983	78,125	10,000
Biofenac gel 1%	Fucidine pommade 2%	1,25	16,00	600	16,983	78,125	10,000
Biofenac gel 1%	Profenid gel 2.5%	1,25	6,25	600	16,983	200,000	10,000
Biofenac gel 1%	Terbinan crème 1%	1,25	216,25	200	16,983	5,780	5,780
Celetasone crème 0.05%	Biofenac gel 1%	0,0625	500,00	600	16,983	0,125	0,125
Celetasone crème 0.05%	Clotasol (crème, gel) 0.05%	0,0625	0,80	600	16,983	78,125	10,000
Celetasone crème 0.05%	Fenoxam gel 0.5%	0,0625	2,50	600	16,983	25,000	10,000
Celetasone crème 0.05%	Fucidine crème 2%	0,0625	16,00	500	16,983	3,906	3,906
Celetasone crème 0.05%	Fucidine pommade 2%	0,0625	16,00	600	16,983	3,906	3,906
Celetasone crème	Profenid gel 2.5%	0,0625	6,25	600	16,983	10,000	10,000

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

0.05%							
Celetasone crème 0.05%	Terbinan crème 1%	0,0625	216,25	200	16,983	0,289	0,289
Clotasol (crème, gel) 0.05%	Biofenac gel 1%	0,0625	500,00	600	16,983	0,125	0,125
Clotasol (crème, gel) 0.05%	Celetasone crème 0.05%	0,0625	21,62	300	16,983	2,891	2,891
Clotasol (crème, gel) 0.05%	Fenoxam gel 0.5%	0,0625	2,50	600	16,983	25,000	10,000
Clotasol (crème, gel) 0.05%	Fucidine crème 2%	0,0625	16,00	500	16,983	3,906	3,906
Clotasol (crème, gel) 0.05%	Fucidine pommade 2%	0,0625	16,00	600	16,983	3,906	3,906
Clotasol (crème, gel) 0.05%	Profenid gel 2.5%	0,0625	6,25	600	16,983	10,000	10,000
Clotasol (crème, gel) 0.05%	Terbinan crème 1%	0,0625	216,25	200	16,983	0,289	0,289
Fenoxam gel 0.5%	Biofenac gel 1%	0,625	500,00	600	16,983	1,250	1,250
Fenoxam gel 0.5%	Celetasone crème 0.05%	0,625	21,62	300	16,983	28,908	10,000
Fenoxam gel 0.5%	Clotasol (crème, gel) 0.05%	0,625	0,80	600	16,983	781,250	10,000
Fenoxam gel 0.5%	Fucidine crème 2%	0,625	16,00	500	16,983	39,063	10,000
Fenoxam gel 0.5%	Fucidine pommade 2%	0,625	16,00	600	16,983	39,063	10,000
Fenoxam gel 0.5%	Profenid gel 2.5%	0,625	6,25	600	16,983	100,000	10,000
Fenoxam gel 0.5%	Terbinan crème 1%	0,625	216,25	200	16,983	2,890	2,890
Fucidine crème 2%	Biofenac gel 1%	2,5	500,00	600	16,983	5,000	5,000
Fucidine crème 2%	Celetasone crème 0.05%	2,5	21,62	300	16,983	115,634	10,000
Fucidine crème 2%	Clotasol (crème, gel) 0.05%	2,5	0,80	600	16,983	3125,000	10,000
Fucidine crème 2%	Fenoxam gel 0.5%	2,5	2,50	600	16,983	1000,000	10,000
Fucidine crème 2%	Fucidine pommade 2%	2,5	16,00	600	16,983	156,250	10,000
Fucidine crème 2%	Profenid gel 2.5%	2,5	6,25	600	16,983	400,000	10,000
Fucidine crème 2%	Terbinan crème 1%	2,5	216,25	200	16,983	11,561	10,000
Fucidine pommade 2%	Biofenac gel 1%	2,5	500,00	600	16,983	5,000	5,000
Fucidine pommade 2%	Celetasone crème 0.05%	2,5	21,62	300	16,983	115,634	10,000
Fucidine pommade 2%	Clotasol (crème, gel) 0.05%	2,5	0,80	600	16,983	3125,000	10,000
Fucidine pommade 2%	Fenoxam gel 0.5%	2,5	2,50	600	16,983	1000,000	10,000
Fucidine pommade 2%	Fucidine crème 2%	2,5	16,00	500	16,983	156,250	10,000
Fucidine pommade 2%	Profenid gel 2.5%	2,5	6,25	600	16,983	400,000	10,000
Fucidine pommade 2%	Terbinan crème 1%	2,5	216,25	200	16,983	11,561	10,000
Profenid gel 2.5%	Biofenac gel 1%	3,125	500,00	600	16,983	6,250	6,250

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

Profenid gel 2.5%	Celetasone crème 0.05%	3,125	21,62	300	16,983	144,542	10,000
Profenid gel 2.5%	Clotasol (crème, gel) 0.05%	3,125	0,80	600	16,983	3906,250	10,000
Profenid gel 2.5%	Fenoxam gel 0.5%	3,125	2,50	600	16,983	1250,000	10,000
Profenid gel 2.5%	Fucidine crème 2%	3,125	16,00	500	16,983	195,313	10,000
Profenid gel 2.5%	Fucidine pommade 2%	3,125	16,00	600	16,983	195,313	10,000
Profenid gel 2.5%	Terbinan crème 1%	3,125	216,25	200	16,983	14,451	10,000
Terbinan crème 1%	Biofenac gel 1%	0,0625	500,00	600	16,983	0,125	0,125
Terbinan crème 1%	Celetasone crème 0.05%	1,25	21,62	300	16,983	57,817	10,000
Terbinan crème 1%	Clotasol (crème, gel) 0.05%	1,25	0,80	600	16,983	1562,500	10,000
Terbinan crème 1%	Fenoxam gel 0.5%	1,25	2,50	600	16,983	500,000	10,000
Terbinan crème 1%	Fucidine crème 2%	1,25	16,00	500	16,983	78,125	10,000
Terbinan crème 1%	Fucidine pommade 2%	1,25	16,00	600	16,983	78,125	10,000
Terbinan crème 1%	Profenid gel 2.5%	1,25	6,25	600	16,983	200,000	10,000

– **Calcul de la valeur de l'ARL**

Selon le tableau LXXXIX, la plus petite valeur de l'ARL est obtenue pour la valeur minimale de la taille de lot, soit  $L_B = 200$  Kg.

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{0,125 \times 200 \times 0,01 \times 10^3}{16,983} = 14,7 \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

**Remarque :** Le calcul des valeurs du MAR et d'ARL est très fastidieux et doit prendre en considération toutes les combinaisons théoriquement possibles, une méthode simplifiée peut être appliquée en considérant pour une gamme de production les données suivantes ;

- Le produit ayant la plus petite dose thérapeutique journalière ( $T_A$ ).
- Le produit ayant la plus grande dose thérapeutique journalière ( $T_B$ ).
- Le produit ayant la taille du lot la plus faible ( $L_B$ ).
- Considérer la surface totale des équipements siège de la contamination croisée entre les deux produits A et B.

La valeur calculée dans ces conditions est la plus faible possible pour une ligne de fabrication. Elle est appelée **limite pire cas** ou limite worst case.

Cette méthode à l'avantage d'être simple pour application mais son inconvénient est de fournir des limites trop faibles de sorte à rendre la méthode analytique moins précise et le risque de statuer non conforme sur un nettoyage qui est réellement conforme.

La méthode simplifiée doit être utilisée très attentivement, elle peut être appliquée dans le cas où la valeur de MAR est relativement basse (avoisinant les 10 ppm) et des surfaces des équipements qui ne sont pas trop élevées.

- Pour le prélèvement par les eaux de rinçage ;

$$ARL_{Eaux\ de\ rin\cage} = \frac{MAR \times L_B}{V} \text{ en } \mu g/ml$$

$$ARL_{Eaux\ de\ rin\cage} = \frac{0,125 \times 200}{45} = 0,55 \mu g/ml$$

V = volume total des eaux de rinçage des équipements de la ligne crème et gel = 45 litres.

### 2.2.1.2. Approche basée sur le calcul de la PDE

Dans le cas de la gamme des produits fabriqués sur la ligne crème et gel, la substance ayant la PDE la plus faible est le **clobetasol propionate**, avec une valeur de **0,0042 mg/jour**.

Cette valeur est calculée à partir des données des études de reprotoxicité durant les essais précliniques du développement du médicament.

L'étude de reprotoxicité à été effectuée chez le rat pendant toute la période de reproduction. La dose n'entraînant aucun effet néfaste (NOAEL) par voie sous cutanée est de 12,5 µg/Kg/jour [158].

$$PDE = \frac{VTR \times B_W}{F_1 \times F_2 \times F_3 \times F_4 \times F_5}$$

- NOAEL = 0,0125 mg/Kg/jour
- F1 = 5 : Espèce animale est le rat
- F2 = 10.
- F3 = 1 : Toute la période de reproduction.
- F4 = 1 : Aucun effet néfaste n'est observé.
- F5 = 3 : Valeur toxicologique (VTR) utilisée est la NOAEL.
- Bw = 50 Kg (poids moyen d'un adulte).

$$PDE_{Clobetasol\ propionate} = \frac{0,0125 \times 50}{5 \times 10 \times 1 \times 1 \times 3} = 0,0042 \text{ mg/jour}$$

La limite d'acceptation obtenue pour cette valeur de PDE minimale est égale à ;

$$ARL = \frac{PDE_A \times L_B \times A_S \times 10^6}{T_B \times W_S} = \frac{0,0042 \times 200 \times 0,01 \times 10^6}{0,5 \times 16,983} = 989,2 \mu g/100cm^2$$

$$ARL_{\acute{e}couvillonnage} = 989,2 \mu g/100cm^2$$

Le tableau XC résume les caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et la méthodologie de calcul de la valeur de PDE du clobetasol propionate.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau XC : Caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et la méthodologie de calcul de la valeur de PDE du clobetasol propionate**

<b>Présentation du produit</b>		
Nom commercial	Clotasol®	
DCI	Clobetasol propionate	
Forme galénique et dosage	Gel, crème et pommade à 0,05 %	
Ligne de fabrication	Crèmes et gels	
<b>Données Physicochimiques du principe actif</b>		<b>Références Bibliographiques</b>
Nom chimique	Propanoate de 21-chloro-9-fluoro 11 β hydroxy-16β-méthyl-3, 20-dioxoprégnane-1,4-diène-17-yle.	Monographie Clobetasol propionate. Pharmacopée européenne 9 <sup>ème</sup> édition.
Formule chimique brute	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> ClFO <sub>5</sub>	
Numéro de CAS	[25122-46-7]	
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche.	
Solubilité dans l'eau	Pratiquement insoluble	
Solubilité dans l'alcool	Assez soluble	
Volatilité	Non	Données internes Biopharm
Nettoyabilité	Moyenne	
<b>Données toxicologiques (toxicité aiguë) du principe actif</b>		
Espèces animales / Voie	Souris (orale), Rat (orale)	MSDS USP Convention, Clobetasole propionate version 2, date de révision 06 juin 2014, page 4.
DL 50	>3000 mg/Kg, >3000 mg/Kg	
<b>Données toxicologiques (toxicité à doses répétées) du principe actif</b>		
Espèce animale / Voie	Rat (sous cutanée)	NDA 21-835 : Pharmacology / Toxicology review and evaluation - Clobex spray 0,05%. CDER - FDA. Date de revision 09/08/2005, Page 36
Durée d'étude	Période de reproduction	
Effets observés	Augmentation du poids des vésicules séminales chez le male et Aucun effet chez la femelle	
Valeur toxicologique (NOEL, NOAEL, LOAEL)	NOAEL (male, femelle) =0,0125 mg/Kg/jour	
<b>Dangerosité et classement de la substance</b>		
Génotoxicité	Non carcinogène	MSDS Diclofenac and misoprostol tablets, Pfizer, Page 9-10. Version 3.0, Date de révision 6 Mars 2015.
Reprotoxicité	Non	
Toxicité des organes	Oui (réversible)	
Pouvoir sensibilisant	Oui (irritation de la peau et des yeux)	
<b>Facteurs d'ajustement et calcul de la PDE (déduits de l'annexe 3 de l'ICH Q3C (R5))</b>		
F1 : Extrapolation entres les espèces (2 – 12)	F1 = 5 Extrapolation : Rat → Etre humain	
F2 : Variabilité inter individuelle	F2 = 10 : Conventionnellement utilisée pour tenir compte de la différence entre les individus dans la population humaine.	
F3 : Etudes de toxicité aiguë ou chronique (1-10)	F3 =1 Basé sur des études de reprotoxicité pendant la période de reproduction	
F4 : Toxicité sévère (1-10)	F4 = 1 Aucun effet sur la fertilité et la croissance de la progéniture	
F5 : Valeur toxicologique utilisée (1 – 10)	F5 = 3 Valeur toxicologique utilisée est la NOEL	
<b>Valeur de la PDE</b>	<b>PDE = 0,0042 mg/ jour</b>	

- Pour les prélèvements par les eaux de rinçage ;

La limite résiduelle exprimée en µg/ml des eaux de rinçage est calculée comme suit ;

$$ARL_{\mu g/ml} = \frac{PDE_A \times L_B \times 10^3}{V} = \frac{0,0042 \times 200 \times 1000}{45} = 18,7 \mu g/ml$$

### 2.2.1.3. Comparaison entre les valeurs obtenues avec les deux approches

D'après les résultats obtenus à partir des deux approches, il est bien évident que les limites les plus strictes sont celles obtenues avec l'approche traditionnelle à savoir :

- Prélèvement par écouvillonnage : Limite = 14,7 µg/100cm<sup>2</sup>.
- Prélèvement par les eaux de rinçage : Limite = 0,55 µg/100cm<sup>2</sup>.

**La validation du nettoyage de la ligne crème et gel étant déjà validée selon l'approche traditionnelle, l'introduction de l'approche PDE n'a aucun impact sur la validité du nettoyage de ladite ligne de fabrication.**

## 2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique

### 2.2.2.1. Contrôle des surfaces par écouvillonnage

- DGAT + DMLT ≤ 200 ufc/100cm<sup>2</sup>
- *E. coli* : Absence
- *P. aeruginosa* : Absence

### 2.2.2.2. Contrôle des eaux de rinçage

- DGAT + DMLT ≤ 10000 ufc/100 ml
- *E. coli* : Absence
- *P. aeruginosa* : Absence

## 2.3. Méthodes d'analyse

### 2.3.1. Méthode d'analyse physicochimique

La méthode de dosage du kétoprofène à l'état de traces dans les prélèvements par écouvillonnage et les eaux de rinçage dans le cadre de la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel est validée au niveau du laboratoire de contrôle qualité de Biopharm industrie, selon la procédure de validation de l'entreprise. Nous présentons ci-dessous les résultats de validation des critères les plus importants à savoir ; la linéarité, la répétabilité et les limites de détection et de quantification.

#### A. Linéarité :

**Tableau XCI : Données de la linéarité de la méthode du dosage de kétoprofène**

Niveaux de linéarité expérimentale en (%)	Concentration de kétoprofène en µg/ml	Aire du pic de kétoprofène (moyenne par concentration)
10%	0.147	5308
40%	0.588	21175
70%	1.029	36962
100%	1.470	52928
130%	1.911	69845
160%	2.352	86900

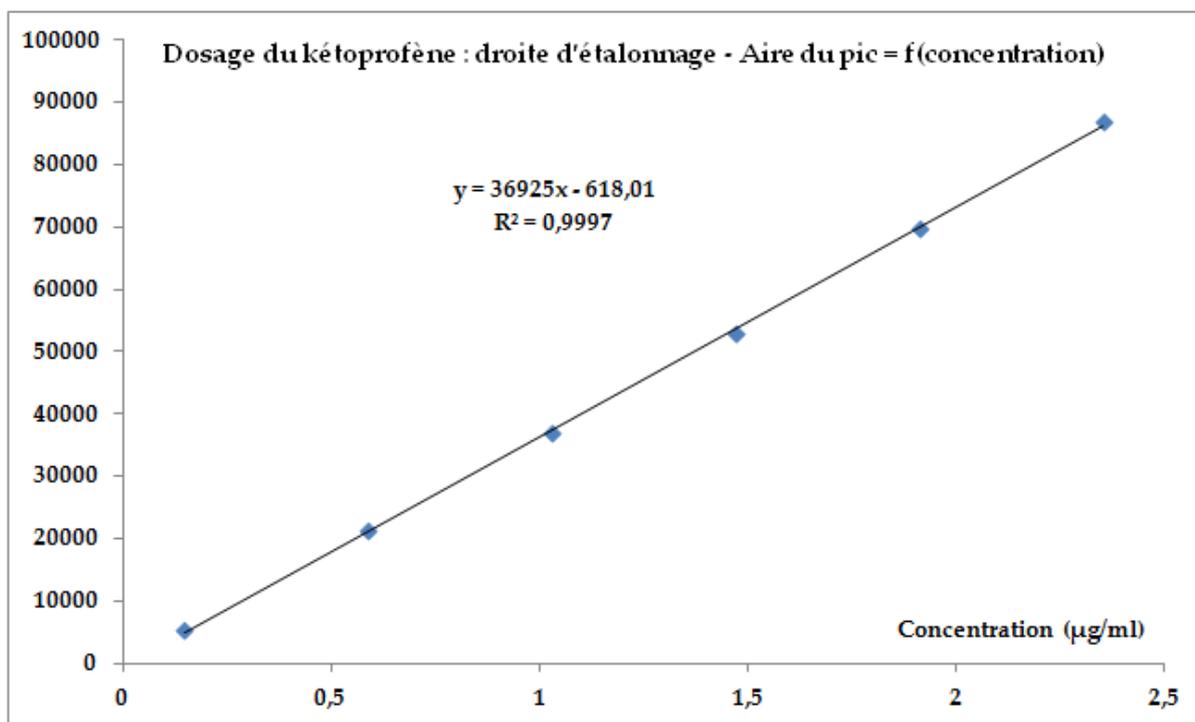


Figure 31 : Linéarité –Droite d'étalonnage - Aire du pic de kétoprofène = f(concentration)

#### Discussion

La méthode présente une **bonne corrélation** ( $R^2 = 0,9997$ ) entre les aires du pic et les concentrations dans l'intervalle de 0,145 µg/ml à 2,352 µg/ml.

#### B. Répétabilité

Tableau XCII : Répétabilité de la méthode de dosages de traces de kétoprofène

Solution plaque 100% (répétition)	Concentration de kétoprofène déposé en µg/ml (1 ml de la solution standard 100%)	Concentration de kétoprofène retrouvé en µg/ml (solution plaque 100%)	Rendement de recouvrement en %
1	1.471	1,310	89.1
2	1.471	1,303	88.6
3	1.471	1,340	91.1
4	1.471	1,264	85.9
5	1.471	1,355	92.1
6	1.471	1,305	88.7
		<b>Moyenne</b>	<b>89.2</b>
		<b>Ecart type</b>	<b>2.2</b>
		<b>RSD % (&lt; 5%)</b>	<b>2.4 %</b>

#### Discussion

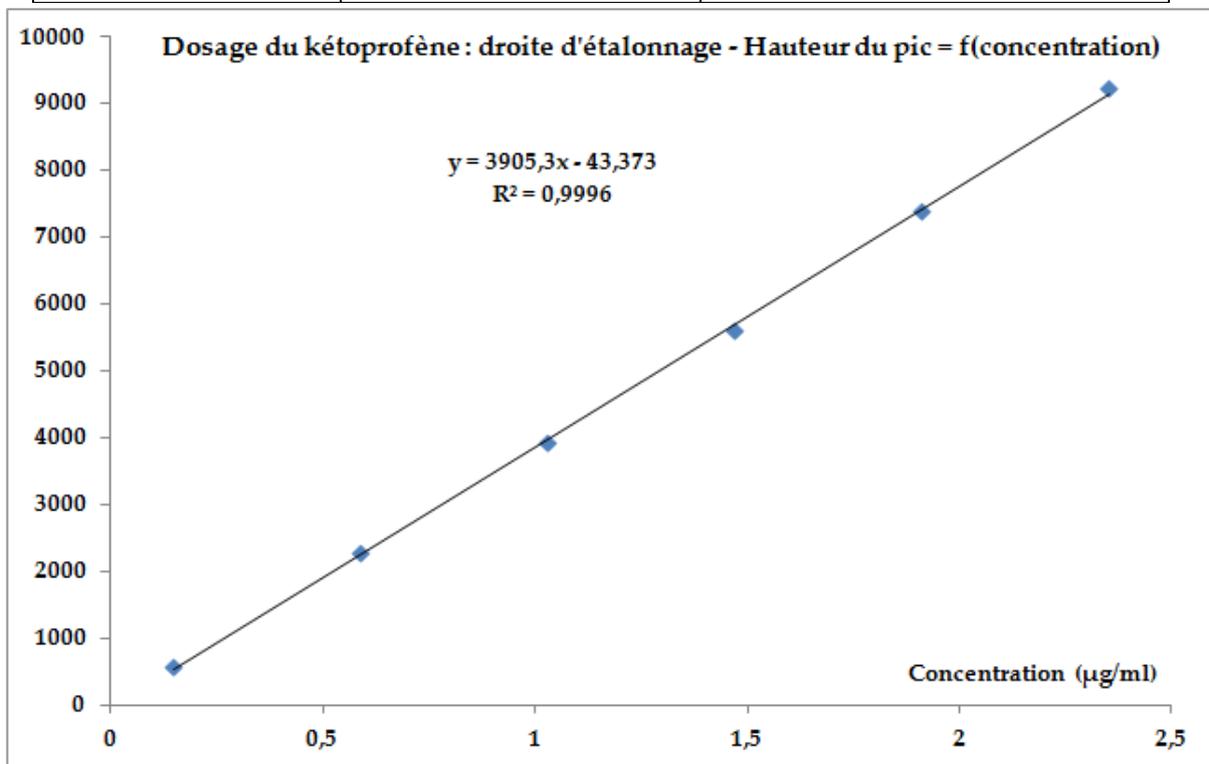
Le coefficient de variation des six (06) répétitions de la préparation et de l'analyse de la solution plaque 100% est de 2,4%. La norme retenue est de 5%, la méthode de dosage des traces de kétoprofène est jugée **répétable**.

**C. Limite de détection et de quantification**

Les limites de détection et de quantification sont déterminées à partir de la droite d'étalonnage : hauteur du pic de kétoprofène en fonction de la concentration suivant la méthode décrite dans le guide ICH Q2(R1).

**Tableau XCIII : Données brutes pour la détermination de la LOD et la LOQ de la méthode de dosage de kétoprofène**

Niveaux de linéarité en (%)	Concentration de kétoprofène en µg/ml	Hauteur du pic de kétoprofène (Moyenne par concentration)
10%	0.147	580,4
40%	0.588	2269,3
70%	1.029	3933,9
100%	1.470	5611,6
130%	1.911	7400,8
160%	2.352	9221,5



**Figure 32 : Droite d'étalonnage - Hauteur du pic de kétoprofène = f(concentration)**

Equation de la droite : Hauteur = f(concentration) :  $H = 3905,3 - 43,373$ , l'erreur de l'ordonnée à l'origine  $\sigma_b$  est calculée par le logiciel origine 6.0 ( $\sigma_b = 23,90$ ).

$$LOD = \frac{3,3 \times \sigma_b}{a} = 0,02 \mu g/ml$$

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma_b}{a} = 0,06 \mu g/ml$$

**Discussion :**

La limite de quantification de la méthode est inférieure à la limite d'acceptation du nettoyage de la ligne crème et gel (eaux de rinçage =  $0,55\mu\text{g/ml}$  et écouvillonnage =  $14,7\mu\text{g/ml}$  équivalente à  $1,47\mu\text{g/ml}$ ).

**La méthode analytique peut donc quantifier les taux résiduels du kétoprofène dans les différents types de prélèvement au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne crème et gel.**

**2.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques**

Les méthodes de dosages microbiologiques (dénombrement microbien et recherche des germes spécifiés) sont communes pour les validations de nettoyage des équipements de fabrication et de la centrale de pesée.

**2.4. Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage**

Au même titre que la validation de la méthode analytique, la méthode de prélèvement a été validée sur 3 niveaux de concentrations (50%, 100% et 150%) de la limite d'acceptation.

Le taux de recouvrement moyen est 88%. Les résultats de la détermination des rendements d'extraction et des taux de recouvrement sont présentés dans le tableau XCIV.

**D'après ce tableau, la moyenne des taux de recouvrement des trois niveaux de concentrations est de 88,0% avec un coefficient de variation de 4,1%**

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau XCIV : Détermination des rendements d'extraction de la méthode de prélèvement par écouvillonnage du kétoprofène – validation du nettoyage de la ligne crème et gel**

Validation de la méthode de prélèvement du principe actif - Contamination des plaques et prélèvement par écouvillonnage-					
Résultats des trois essais					
Niveaux de concentrations / Répétitions		Quantité de PA déposée en µg	Quantité de PA retrouvée en µg	Taux de recouvrement (%)	
Répétition 1	50%	Essai 1	0,736	0,618	84,0
		Essai 2	0,736	0,633	86,0
		Essai 3	0,736	0,625	84,9
		Moyenne			85,0
	100%	Essai 1	1,472	1,289	87,6
		Essai 2	1,472	1,256	85,3
		Essai 3	1,472	1,250	84,9
		Moyenne			85,9
	150%	Essai 1	2,208	1,918	86,9
		Essai 2	2,208	1,892	85,7
		Essai 3	2,208	1,905	86,3
		Moyenne			86,3
Répétition 2	50%	Essai 1	0,735	0,682	92,8
		Essai 2	0,735	0,688	93,6
		Essai 3	0,735	0,689	93,7
		Moyenne			93,4
	100%	Essai 1	1,470	1,274	86,7
		Essai 2	1,470	1,270	86,4
		Essai 3	1,470	1,292	87,9
		Moyenne			87,0
	150%	Essai 1	2,205	1,899	86,1
		Essai 2	2,205	1,887	85,6
		Essai 3	2,205	1,934	87,7
		Moyenne			86,5
Répétition 3	50%	Essai 1	0,736	0,722	98,1
		Essai 2	0,736	0,668	90,8
		Essai 3	0,736	0,707	96,1
		Moyenne			95,0
	100%	Essai 1	1,472	1,283	87,2
		Essai 2	1,472	1,239	84,2
		Essai 3	1,472	1,266	86,0
		Moyenne			85,8
	150%	Essai 1	2,208	1,887	85,5
		Essai 2	2,208	1,892	85,7
		Essai 3	2,208	1,994	90,3
		Moyenne			87,2
<b>Moyenne totale</b>				<b>88,0</b>	
<b>% RSD total</b>				<b>4,1</b>	

**2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage de la ligne crème et gel**

Les équipements de la ligne crème et gel sont nettoyés après fabrication d'un lot de Profenid® gel 2,5% et ce, à 3 reprises.

Les prélèvements en vue des analyses physicochimiques et microbiologiques ont été effectués selon le plan de prélèvements retenu, le dosage du kétoprofène à l'état de traces et le dénombrement des microorganismes dans les différents types de prélèvements ont été réalisés. Les résultats obtenus ont été comparés aux limites d'acceptation.

**2.5.1. Résultats de la validation du nettoyage de la ligne crème et gel**

**2.5.1.1. Inspection visuelle des équipements**

Après nettoyage de la ligne crème et gel, une inspection visuelle des équipements notamment les endroits difficilement accessibles a été effectuée pour vérifier l'absence des résidus visibles du produit. Les résultats sont présentés dans le tableau XCV.

**Tableau XCV : Résultats de l'inspection visuelle des équipements de la ligne crème et gel – Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
Jours 1, 2 et 3	Cuve de préparation	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Cuve de stockage	Non		Conforme
	Cuve de stockage	Non		Conforme
	Pompe de transfert	Non		Conforme
	Flexible de transfert	Non		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation	Non		Conforme
	Trémie de la remplisseuse –	Non		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	Non		Conforme

**2.5.1.2. Inspection visuelle des prélèvements**

L'aspect des écouvillons et des eaux de rinçages après prélèvement a été vérifié pour absence des taches ou des particules étrangères.

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux XCVI et XCVII.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau XCVI : Résultats de l'inspection visuelle des écouvillons après prélèvement des équipements de la ligne crème et gel – Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	Présence de taches sur les écouvillons	Norme	Statut
Jours 1, 2 et 3	Cuve de préparation – Vanne inférieur	Non	Absence de taches visibles sur les écouvillons	Conforme
	Cuve de préparation – Haut de la cuve	Non		Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	Non		Conforme
	Cuve de stockage – Haut	Non		Conforme
	Pompe de transfert	Non		Conforme
	Flexible de transfert	Non		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – coté	Non		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – sortie	Non		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – conduit L	Non		Conforme
	Trémie de la remplisseuse – coté	Non		Conforme
	Trémie de la remplisseuse – sortie	Non		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	Non		Conforme

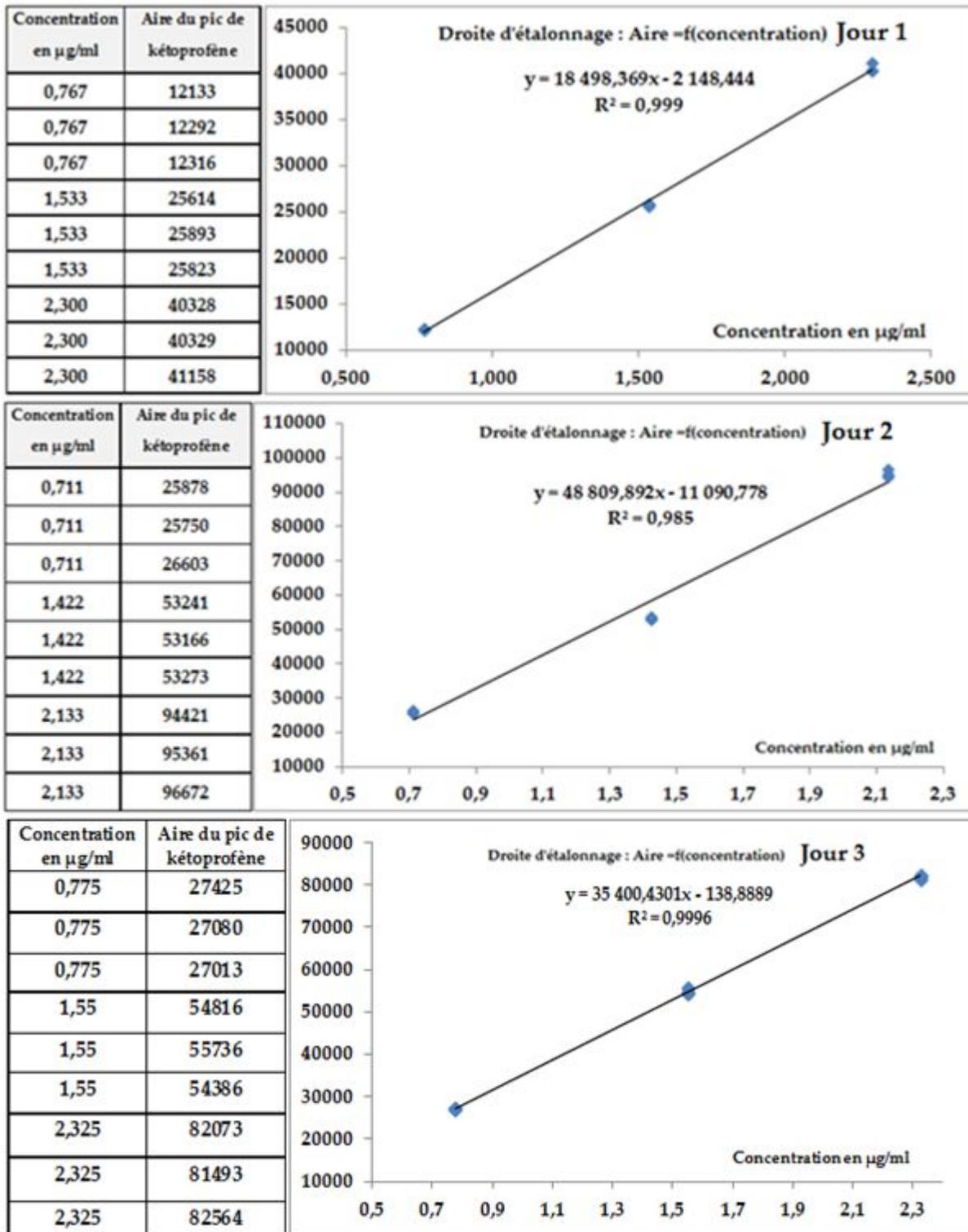
**Tableau XCVII : Résultats de l'inspection visuelle des eaux de rinçage après prélèvement des équipements de la ligne crème et gel – Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	changement d'aspect ou présence des particules étrangères	Norme	Statut
Jours 1, 2 et 3	Cuve de préparation	Non	Absence de changement de l'aspect et de particules étrangères	Conforme
	Cuve de stockage	Non		Conforme
	Pompe de transfert	Non		Conforme
	Flexible de transfert	Non		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation	Non		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	Non		Conforme

**2.5.1.3. Analyse physicochimique : Dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage**

- **Préparation de la gamme d'étalonnage :** Une gamme d'étalonnage par jour comprenant chacune trois niveaux de concentrations a été préparée, une droite d'étalonnage est tracée pour quantifier le kétoprofène dans les prélèvements.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**



**Figure 33 : Droite d'étalonnage– Aire du pic de kétoprofène = f(concentration), jours 1, 2 et 3**

**Note :** L'analyse des solutions par HPLC durant le 2<sup>ème</sup> jour a été faite sur un équipement différent de celui utilisé pour l'analyse des solutions pendant les deux autres jours (Chaîne HPLC avec détecteur barrette de diodes pour le jour 1 et HPLC avec détecteur UV à une longueur d'onde pour le jour 2), ceci explique l'écart observé des aires du pic entre les deux jours pour un même niveau de concentration.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL

### A. Dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage

Les prélèvements par écouvillonnage sont repris à l'intérieur des tubes à vis par 10 ml de solvant d'extraction. Les solutions ainsi obtenues sont injectées dans les chromatographes.

Les concentrations en kétoprofène sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage en tenant compte du taux de recouvrement de 88%.

La quantité résiduelle du kétoprofène par unité de surface au niveau des points de prélèvement est donnée par la formule suivante :

$$\text{Jour 1 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{\text{ech}} + 2148,444)}{0,88 \times 18498,369} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

$$\text{Jour 2 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{\text{ech}} + 11090,778)}{0,88 \times 48809,982} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

$$\text{Jour 3 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{\text{ech}} + 138,8889)}{0,88 \times 35400,4301} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

Avec :  $A_{\text{ech}}$  est la surface du pic de kétoprofène dans la solution échantillon.

Les résultats obtenus pour les 3 jours sont présentés dans le tableau XCVIII.

### B. Dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage

Les eaux de rinçage sont injectées directement dans les chromatographe. Les concentrations en kétoprofène sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage.

La quantité résiduelle du kétoprofène en  $\mu\text{g}/\text{ml}$  est donnée par la formule suivante :

$$\text{Jour 1 : Quantité résiduelle} = \frac{(A_{\text{ech}} + 2148,444)}{18498,369} \mu\text{g}/\text{ml}$$

$$\text{Jour 2 : Quantité résiduelle} = \frac{(A_{\text{ech}} + 11090,778)}{48809,982} \mu\text{g}/\text{ml}$$

$$\text{Jour 3 : Quantité résiduelle} = \frac{(A_{\text{ech}} + 138,8889)}{35400,4301} \mu\text{g}/\text{ml}$$

Avec :  $A_{\text{ech}}$  est la surface du pic de kétoprofène dans la solution échantillon.

Les résultats obtenus pour les 3 jours sont présentés dans le tableau XCIX.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau XCVIII : Validation du nettoyage de la ligne crème et gel : Dosage des traces du  
kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	A <sub>ech</sub>	Quantité résiduelle µg/100cm <sup>2</sup>	Norme	Statut du nettoyage
Jours 1	Cuve de préparation – Vanne inférieur	4358	4,0	< 14,7 µg / 100 cm <sup>2</sup>	Conforme
	Cuve de préparation – Haut de la cuve	< LOD	< LOD		Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	< LOD	< LOD		Conforme
	Cuve de stockage - Haut	3918	3,7		Conforme
	Pompe de transfert	< LOD	< LOD		Conforme
	Flexible de transfert	2921	3,1		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation - coté	< LOD	< LOD		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – sortie	< LOD	< LOD		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – conduit L	< LOD	< LOD		Conforme
	Trémie de la remplisseuse – coté	< LOD	< LOD		Conforme
	Trémie de la remplisseuse – sortie	3545	3,5		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	< LOD	< LOD		Conforme
	Bloc de dosage de la remplisseuse	< LOD	< LOD		Conforme
Jours 2	Cuve de préparation – Vanne inférieur	572	2,72	< 14,7 µg / 100 cm <sup>2</sup>	Conforme
	Cuve de préparation – Haut de la cuve	6229	4,03		Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	28947	9,32		Conforme
	Cuve de stockage - Haut	629	2,73		Conforme
	Pompe de transfert	1497	2,93		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation - coté	896	2,79		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – sortie	381	2,67		Conforme
	Trémie de la cuve de préparation –conduit L	1202	2,86		Conforme
	Trémie de la remplisseuse – coté	413	2,68		Conforme
	Trémie de la remplisseuse – sortie	917	2,80		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	2246	3,10		Conforme
	Bloc de dosage de la remplisseuse	4094	3,54		Conforme
	Jours 3	Cuve de préparation – Vanne inférieur	773		0,29
Cuve de préparation – Haut de la cuve		< LOD	< LOD	Conforme	
Cuve de stockage – vanne inférieur		853	0,32	Conforme	
Cuve de stockage - Haut		671	0,26	Conforme	
Pompe de transfert		1497	0,53	Conforme	
Flexible de transfert		776	0,29	Conforme	
Trémie de la cuve de préparation - coté		1114	0,40	Conforme	
Trémie de la cuve de préparation – sortie		769	0,29	Conforme	
Trémie de la cuve de préparation –conduit L		345	0,16	Conforme	
Trémie de la remplisseuse – coté		367	0,16	Conforme	
Trémie de la remplisseuse – sortie		426	0,18	Conforme	
Kit de dosage de la remplisseuse		512	0,21	Conforme	
Bloc de dosage de la remplisseuse		473	0,20	Conforme	

LOD = 0,02 µg/ml. Les données brutes (chromatogrammes) sont présentées dans l'annexe II.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau XCIX : Validation du nettoyage de la ligne crème et gel : Dosage des traces du kétoprofène dans eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	A <sub>ech</sub>	Quantité résiduelle en µg/ml	Norme	Statut du nettoyage
Jour 1	Cuve de préparation –	2399	0,25	< 0,55 µg / ml	Conforme
	Cuve de stockage	1785	0,21		Conforme
	Pompe de transfert	< LOD	< LOD		Conforme
	Flexible de transfert	< LOD	< LOD		Conforme
	Trémie – cuve de préparation	< LOD	< LOD		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	< LOD	< LOD		Conforme
Jour 2	Cuve de préparation –	6267	0,36	< 0,55 µg / ml	Conforme
	Cuve de stockage	< LOD	< LOD		Conforme
	Pompe de transfert	< LOD	< LOD		Conforme
	Flexible de transfert	2215	0,27		Conforme
	Trémie – cuve de préparation	2218	0,27		Conforme
	Trémie de la remplisseuse	2406	0,28		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	2225	0,27		Conforme
Jour 3	Cuve de préparation –	2297	0,07	< 0,55 µg / ml	Conforme
	Cuve de stockage	< LOD	< LOD		Conforme
	Pompe de transfert	< LOD	< LOD		Conforme
	Flexible de transfert	< LOD	< LOD		Conforme
	Trémie – cuve de préparation	< LOD	< LOD		Conforme
	Trémie de la remplisseuse	< LOD	< LOD		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	< LOD	< LOD		Conforme

**2.5.1.4. Analyse microbiologique**

Les résultats des analyses microbiologiques (DGAT, DMLT et la recherche des germes spécifiés) dans les prélèvements par écouvillonnage et les eaux de rinçage sont présentés dans les tableaux C et CI.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau C : Résultats de la validation du nettoyage de la ligne crème et gel. Analyses  
microbiologiques - Prélèvements par écouvillonnage, Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100cm <sup>2</sup> )	200		Absence	Absence	
Jour 1	Cuve de préparation – Haut de la cuve	11	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de préparation – Vanne inférieur	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation - coté	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – sortie	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation –conduit L	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage - Haut	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse – coté	06	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse – sortie	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Bloc de dosage de la remplisseuse	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
Jour 2	Cuve de préparation – Haut de la cuve	07	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de préparation – Vanne inférieur	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation - coté	02	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – sortie	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – conduit L	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage - Haut	13	03	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse – coté	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse – sortie	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Bloc de dosage de la remplisseuse	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
Jour 3	Cuve de préparation – Haut de la cuve	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de préparation – Vanne inférieur	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – coté	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – sortie	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation – conduit L	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage - Haut	08	01	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse – coté	02	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse – sortie	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Bloc de dosage de la remplisseuse	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	NA	NA	Absence	Absence	Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau CI : Résultats de la validation du nettoyage Ligne crème et gel. Analyses microbiologiques – Prélèvement par eaux de rinçage, Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	10000		Absence	Absence	
Jour 1	Cuve de préparation –	01	01	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	33	12	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse	04	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	16	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible de transfert	00	00	Absence	Absence	Conforme
	système de dosage de la remplisseuse	00	00	Absence	Absence	Conforme
Jour 2	Cuve de préparation –	01	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation	13	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	47	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse	55	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	13	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible de transfert	01	00	Absence	Absence	Conforme
	système de dosage de la remplisseuse	310	00	Absence	Absence	Conforme
Jour 3	Cuve de préparation –	11	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la cuve de préparation	05	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	01	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie de la remplisseuse	02	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	01	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible de transfert	06	00	Absence	Absence	Conforme
	système de dosage de la remplisseuse	08	00	Absence	Absence	Conforme

**2.5.1.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage**

Les résultats de la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage par méthode colorimétrique (méthode validée par le fournisseur) sont présentés dans le tableau CII.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE II : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE CREME ET GEL**

**Tableau CII : Résultats de la validation du nettoyage de la ligne crème et gel. Recherche des traces du détergent – Jour 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	Coloration			Traces du détergent	Norme	Statut
		Phase inférieur	Phase supérieur	Anneau d'émulsion			
Jours 1, 2 et 3	Cuve de préparation	Aucune	Violette	Aucune	Absence	< 4 ppm	Conforme
	Cuve de stockage	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Pompe de transfert	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Flexible de transfert	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Trémie de la remplisseuse	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Kit de dosage de la remplisseuse	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Témoin C	Aucune	Violette	Aucune	Présence	témoin positif	
	Témoin A	Grise	Bleue	Grise – bleue	Absence	témoin négatif	

**2.5.2. Discussion :**

A l'issue de chaque fabrication industrielle du médicament **Profenid® gel 2,5%**, un nettoyage des équipements de la ligne crème et gel a été effectué selon la procédure de nettoyage, une série de contrôles a été réalisée afin de statuer sur la validité du procédé de nettoyage.

- L'inspection visuelle de la ligne crème et gel après nettoyage a montré l'absence des traces visibles de produit sur les surfaces des équipements.
- L'aspect des prélèvements (écouvillons et eaux de rinçage) est sans anomalies particulières.
- Les taux résiduels du kétoprofène retrouvés dans les deux types de prélèvements (écouvillonnage et eaux de rinçage) après nettoyage et suite à la fabrication à trois reprises du produit fini **profenid® gel 2,5%**, sont inférieurs aux limites d'acceptation (écouvillonnage et eaux de rinçage) et ce, pour chaque point prélevé de la ligne crème et gel. Ce qui atteste de la validité du nettoyage de cette ligne de point de vue physicochimique.
- Après fabrication du produit fini **Profenid® gel 2,5%** et nettoyage des équipements de la ligne crème et gel et ce, à trois reprises, le dénombrement des microorganismes (DGAT + DMLT) et la recherche des germes spécifiés (*E. Coli* et *P. aeruginosa*) dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage sont inférieurs aux limites spécifiées. Le nettoyage de la ligne crème et gel est donc valide de point de vue microbiologique.
- Les traces du détergent ont été recherchées dans les eaux de rinçage pour analyses physicochimiques, les résultats obtenus démontrent l'absence des traces du détergent dans le prélèvement en question et par suite sur les surfaces des équipements.

### 3. Conclusion

Le nettoyage des équipements de la ligne crème et gel a fait objet de validation selon la stratégie des pires cas.

Dans ce travail, nous avons utilisé deux approches différentes pour cette validation du nettoyage, **une approche traditionnelle** pour laquelle nous avons développé une démarche quantitative pour le choix des traceurs physicochimique et microbiologique et la **nouvelle approche** basée sur le calcul de la PDE.

La validation du nettoyage de la ligne suppositoire étant déjà validée selon l'approche traditionnelle, l'introduction de l'approche PDE **n'a eu aucun impact** sur la validité du nettoyage de ladite ligne de fabrication.

Pour chacune des deux approches, des critères de sélection ont été définis et des échelles pour la cotation de ces critères ont été établies. Un score final comme critère de jugement a été calculé pour chaque produit. Le produit pire cas correspond à celui ayant obtenu le score le plus élevé.

Pour le dosage du kétoprofène à l'état de traces, une méthode de dosage par HPLC est mise au point, la méthode est adaptée à la limite d'acceptation de la ligne crème et gel puis validée selon la méthodologie de validation analytique de l'entreprise. Cette méthode est caractérisée par une limite de détection de 0,02 µg/ml et une limite de quantification de 0,06 µg/ml.

Les taux de recouvrement de la méthode de prélèvement par écouvillonnage en vue du dosage de traces du kétoprofène sont déterminés sur une gamme de trois (03) niveaux de concentrations. Le taux de recouvrement moyen obtenu est de 88% avec un RSD de 4,3%. Ce taux de recouvrement ainsi déterminé, est > 70% recommandé par la SFSTP et à 50% exigé par la FDA.

Un plan de prélèvements a été établi et les points critiques de la ligne crème et gel ont été définis. Deux modes de prélèvement ont été utilisés à savoir ; le prélèvement par écouvillonnage et par les eaux de rinçage.

La reproductibilité de l'efficacité du procédé de nettoyage à été démontrée à trois reprises consécutives après fabrication du produit pires cas "**Profenid gel 2,5%**" et nettoyage des équipements. Tous les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques et microbiologiques ont été conformes aux limites d'acceptations.

**Le nettoyage des équipements de fabrication de la ligne crème et gel de Biopharm industrie est donc valide selon la stratégie des pires cas.**

# **CHAPITRE III**

## **VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

Le présent chapitre a pour objet de documenter la méthodologie et les résultats de la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire de Biopharm industrie. Le protocole de validation proposé fait référence aux exigences réglementaires et de qualité des BPF, à la littérature scientifique et à la politique qualité de l'entreprise.

## **1. Matériel et méthodes**

### **1.1. Matériel**

#### **1.1.1. Description de la ligne suppositoire**

La ligne suppositoire de Biopharm industrie est composée de deux ateliers ;

- Atelier de préparation comprenant les équipements suivants :
  - Cuve de préparation,
  - Pompe de transfert,
  - Flexibles de préparation,
  - Accessoires de travail (spatules cuillères).
- Un atelier de conditionnement primaire comprenant les équipements ci-dessous :
  - Une cuve de stockage (ou de transfert),
  - Une station de dosage (composée de chambres, d'injecteurs et de clapets),
  - Une pompe de recyclage,
  - Des flexibles de conditionnement primaire.

Le produit semi-fini est transféré de l'atelier de préparation vers la cuve de stockage puis de la cuve de stockage vers station de dosage à l'aide d'une pompe et des flexibles.

#### **1.1.2. Gamme de production de la ligne suppositoire**

Sur la ligne de production des suppositoires, sont fabriqués des médicaments appartenant à deux formes galéniques (suppositoire et ovule gynécologique) et de classes thérapeutiques très variées. Le tableau CIII énumère les différents produits fabriqués sur la ligne suppositoire et leurs classes thérapeutiques.

**Remarque :** Nous avons listé dans ce tableau uniquement les produits commercialisés, ceux qui sont en cours de développement ne sont pas cités pour des raisons de confidentialité.

Cette restriction n'a pas eu d'impact, ni sur le choix des traceurs ni sur la détermination des limites d'acceptation.

**Tableau CIII : Gamme de production de la ligne suppositoire**

N	Nom commercial	Nom du principe actif (DCI)	Forme galénique	Dosage unitaire	Classe thérapeutique
1	Biofenac®	Diclofénac de sodium	Suppositoire	25 mg 100 mg	Anti-inflammatoire non Stéroïdien
2	Doliprane®	Paracétamol	Suppositoire	100 mg 150 mg 200 mg 300 mg	Antalgique Antipyrétique
3	Falgyl ®	Metronidazole	Ovule gynécologique	500 mg	Antiparasitaire
4	Gynodermofix	Nitrate de sertaconazole	Ovule gynécologique	300 mg	Antiparasitaire
6	Mepramide	Métoclopramide	Suppositoire	10 mg	Antiémétique
7	Painoxam	Piroxicam	Suppositoire	20 mg	AINS
8	Profenid	Kétoprofène	Suppositoire	100 mg	AINS
9	Ruscolog	Trimebutine Ruscogenines	Suppositoire	120 mg 10 mg	Anti hémorroïdal

### 1.1.3. Matériel de contrôle

Etant donné que le traceur en physicochimie pour la validation du nettoyage de la ligne suppositoire est le kétoprofène, le matériel de contrôle utilisé dans le présent chapitre est le même que celui utilisé pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée et de la ligne crème et gel.

### 1.2. Méthodes

Les étapes de validation du nettoyage de la ligne suppositoire selon l'approche « **pires cas** » sont identiques à celles observées pour la validation du nettoyage de la ligne crème et gel à savoir ;

- Choix du traceur.
- Détermination des critères d'acceptation.
- Validation de la méthode de dosage du contaminant à l'état de traces.
- Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.
- Reproductibilité du procédé de nettoyage.

#### 1.2.1. Choix du traceur

##### 1.2.1.1. Choix du traceur physicochimique

Le choix du traceur physicochimique est fait selon les deux approches, traditionnelle et la nouvelle reposant sur la valeur de la PDE, ces deux approches sont identiques à celles appliquées à la validation du nettoyage de la ligne crème et gel et toutes les autres lignes de fabrication.

### **A. Approche traditionnelle**

Le traceur physicochimique, choisi selon l'approche traditionnelle pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire est le **kétoprofène**, principe actif du produit fini **Profenid® suppositoire**. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux CVII et CVIII de la partie résultats et discussion.

### **B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE**

Les valeurs de PDE sont calculées pour chaque principe actif (donnée internes établies dans le cadre de la présente thèse), les coefficients attribués pour le paramètre toxicité (dangerosité) sont les suivants :

- Valeurs de PDE comprises entre 10 – 100 µg/jour (coefficient = 4), on retrouve : kétoprofène, piroxicam et diclofénac de sodium.
- Valeur de PDE comprise entre 100 – 1000 µg/jour (coefficient = 3), on retrouve : paracétamol, metronidazole et le sertaconazole nitrate.
- Valeur de PDE comprise entre 1 – 10 mg/jour (coefficient = 2), on retrouve : metoclopramide et trimébutine.

D'après les résultats présentés dans le tableau CIX, le **kétoprofène** est choisi comme traceur physicochimique.

#### **1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique**

Les critères de sélection retenus pour le choix du traceur microbiologique sont les suivants :

- Dénombrement microbien (indice de DGAT + indice de DMLT),
- Présence ou absence des agents antimicrobiens,
- Nettoyabilité.

Etant donnée que les limites pour le dénombrement microbien sont les mêmes (DGAT = 1000 et DMLT = 100) pour les produits destinés à la même voie d'administration (voie rectale) et aucun produit ne contient des agents antimicrobiens. Le seul critère de sélection qui varie entre les produits est la nettoyabilité.

Le traceur retenu est le **Profenid® suppositoire 100 mg** car c'est le produit ayant le coefficient de nettoyabilité le plus élevé (très difficile à nettoyer).

### **1.2.2. Etablissement des critères d'acceptation**

#### **1.2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique**

Les limites d'acceptation "ARL" pour les deux modes de prélèvements (écouvillonnage et eaux de rinçage) et suivant les deux approches (traditionnelle et la nouvelle reposant sur la PDE) sont calculées de la même façon que les limites d'acceptation établies dans le cadre de la validation du nettoyage de la ligne crème et gel.

#### **1.2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique**

Les limites d'acceptation en analyse microbiologiques sont établies de la même manière que celles de la validation du nettoyage de la ligne crème et gel.

### **1.3. Méthodes d'analyse**

#### **1.3.1. Méthode d'analyse physicochimique du dosage de kétoprofène**

Le kétoprofène est un traceur physicochimique commun pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée et des lignes de fabrication des formes crème et gel et suppositoire.

Les caractéristiques analytiques (diluant, conditions chromatographiques) de dosage des traces du kétoprofène dans le cadre de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire sont identiques à celles utilisées dans le cadre de validation du nettoyage de la centrale de pesée. Etant donnée des niveaux de concentrations différentes (pour différence des limites d'acceptation) la méthode est revalidée au laboratoire de contrôle qualité, le protocole de validation est établie selon la procédure de validation des méthodes d'analyse et est adapté à la limite d'acceptation de la ligne suppositoire.

#### **1.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques**

Les méthodes d'analyse microbiologique rencontrées dans le cadre de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire sont les mêmes que celles utilisées dans la validation du nettoyage de la centrale de pesée et les autres lignes de fabrication.

#### **1.3.3. Méthode de recherche des traces du détergent**

La recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage se fait selon la méthode validée par le fournisseur.

Le détergent utilisé dans le nettoyage de la ligne suppositoire contient un **agent tensioactifs (ammonium quaternaire)** et des agents bactéricides et fongicides. La recherche des traces du détergent se fait par une méthode colorimétrique.

**1.3.3.1. Principe :** Recherche des traces d'amine quaternaire en milieu biphasique et en présence d'une solution de bleu de bromophénol comme indicateur coloré en milieu basique. Il s'agit d'une extraction par formation de paires d'ions (ion bromophénol + Ammonium quaternaire), le pH basique est requiert pour la stabilité de la paire d'ions.

#### **1.3.3.2. Réactifs :**

- Indicateur coloré : solution de bleu de bromophénol à 3% en milieu basique.
- Solution d'hydroxyde de sodium 1M.
- Chloroforme pour analyse

### 1.3.3.3. Mode et conditions opératoires

**Tableau CIV: Mode et conditions opératoires pour la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage (ligne suppositoire) [157].**

	<b>A : Témoin</b>	<b>B : Echantillon</b>	<b>C : Etalon</b>
Chloroforme	1 ml	1 ml	1 ml
Indicateur coloré	3 gouttes	3 gouttes	3 gouttes
Solution de soude	1 ml	1 ml	1 ml
Eau purifiée	10 ml	0 ml	0 ml
Eau de rinçage	0 ml	10 ml	0 ml
Solution étalon 0,5 %	0 ml	0 ml	10 ml

Agiter bien les tubes puis les laisser reposer.

### 1.3.3.4. Interprétation des résultats

L'observation doit être faite sur fond blanc et par rapport au témoin.

**Tableau CV : Interprétation des résultats de la méthode de recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage (ligne suppositoire) [157].**

<b>Tubes</b>	<b>Tube A= témoin</b>	<b>Tube C= étalon</b>
<b>Coloration phase supérieure</b>	Violette	Grise
<b>Coloration phase inférieure</b>	Aucune	Bleu

### 1.3.3.5. Critères d'acceptation

La coloration du tube **B** doit être identique à celle du tube **A**.

Seuil de détection = **0,5 ppm** en matière active.

### 1.4. Détermination du taux de recouvrement de kétoprofène pour le prélèvement par écouvillonnage

La méthode de prélèvement du kétoprofène validée dans le cadre de la validation du nettoyage de la centrale de pesée est utilisée, elle est revalidée et adaptée à la limite d'acceptation de la ligne suppositoire.

### 1.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage

#### 1.5.1. Méthode de nettoyage

- Le nettoyage des équipements de la ligne suppositoire a été réalisé à l'aide d'une solution aqueuse et chaude d'un détergent à base d'une amine quaternaire, dosée à 2% soit par circulation (cuves, pompes et canalisations) ou par trempage pour les parties démontables (station de dosage, accessoires de travail).
- Le rinçage final se fait avec l'eau purifiée. Le volume total de l'eau utilisée est de **50 litres**.

#### 1.5.2. Plan de prélèvements

Le choix des points de prélèvement pour analyses physicochimiques et microbiologiques est porté sur les équipements et les endroits suivantes ;

- Cuve de préparation (Haut de la cuve + Vanne inférieur).
- Cuve de stockage (Haut de la cuve + Vanne inférieur).

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

- Station de dosage (clapets + chambre + injecteurs).
- Pompe de transfert.
- Pompe de recyclage.
- Flexibles (de préparation et de conditionnement).
- Accessoires de travail (spatules cuillères).

**Tableau CVI : Plan de prélèvements au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire**

Equipements	Point critique de l'équipement	Prélèvement physicochimique		Prélèvement Microbiologique	
		Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage
Cuve de préparation	-Haut de cuve -Vanne inferieur	√	√	√	√
Cuve de stockage	-Haut de cuve -Vanne inferieur	√	√	√	√
Pompe de transfert	-Raccord de connections	√	√	√	√
Flexibles	-Paroi interne	√	√	√	√
Pompe de recyclage	-Raccord de connections	√	√	√	√
Station de dosage	-- Clapets -Chambre -Injecteurs	√	√	√	√
Accessoires de travail	Spatule cuillère	√	√	√	√

**1.5.3. Critères d'acceptation**

**1.5.3.1. Critères visuels**

- **Aspect des équipements** : L'inspection visuelle des équipements après nettoyage ne doit retrouver aucune trace visible du produit à l'œil nu.
- **Aspect des prélèvements** : Les écouvillons et les eaux de rinçage après prélèvements doivent garder leurs aspects originaux (absence de tache, de changement d'aspect ou de particules visibles à l'œil nu).

**1.5.3.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique** : Après fabrication du Profenid® suppositoire 100 mg et nettoyage des équipements de la ligne suppositoire, les taux résiduels dans les prélèvements par écouvillonnage doivent être inférieurs à 250 µg/100 cm<sup>2</sup> et à 12,7 µg/ml dans les eaux de rinçage.

**1.5.3.3. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique**

Le dénombrement microbien DGAT et DMLT doit être respectivement inférieur à (normes internes) ;

- **Prélèvement par écouvillonnage** :
  - DGAT + DMLT < 200 ufc/100 cm<sup>2</sup>

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

- **Prélèvement par les eaux de rinçage :**
  - DGAT + DGAT < 10000 ufc / 100 ml.

Pour la recherche des germes spécifiés : Deux germes sont concernés, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Aucune colonie ne doit être retrouvée dans les prélèvements.

**2. Résultats et discussion**

**2.1. Choix du traceur**

**2.1.1. Choix du traceur physicochimique**

**2.1.1.1. Approche traditionnelle**

La base de données et la cotation des critères pour le choix du traceur physicochimique sont présentées dans les tableaux CVII et CVIII.

**Tableau CVII : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire selon l'approche traditionnelle – base de données**

Produit	principe actif	Solubilité (eau)	Nettoyabilité	Toxicité (DL50)*
Biofenac®	Diclofenac de sodium	Assez soluble	Difficile	53 mg/kg (rat)
Doliprane®	Paracétamol	Assez soluble	Facile	338 mg/Kg (souris)
Falgyl ®	Métronidazole	Peu soluble	Moyenne	3000 mg/Kg (rat)
Gynodermofix	Nitrate de sertaconazole	Pratiquement insoluble	Moyenne	8000 mg/Kg (souris)
Mepramide	Métoclopramide	Pratiquement insoluble	Moyenne	280 mg/kg (souris)
Painoxam	Piroxicam	Pratiquement insoluble	Difficile	216 mg/kg (rat)
Profenid	Kétoprofène	Pratiquement insoluble	Très difficile	62,4 mg/kg (rat)
Ruscolog	Trimebutine	Pratiquement insoluble	Moyenne	3320 mg/Kg (souris)
	Ruscogenines	Pratiquement insoluble	Moyenne	300 mg/Kg (souris)

\* : Les références consultées pour les valeurs des DL50 des principes actifs de la ligne suppositoire sont les mêmes que celles consultées pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CVIII : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire selon l'approche traditionnelle- cotation des critères**

Produit	Principe actif	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité	Score
Biofenac®	Diclofenac de sodium	4	3	4	48
Doliprane®	Paracétamol	4	3	4	48
Falgyl®	Métronidazole	5	2	2	20
Gynodermofix	Nitrate de sertaconazole	7	2	2	28
Mepramide	Métoclopramide	7	2	4	56
Painoxam	Piroxicam	7	3	4	82
<b>Profenid</b>	<b>Kétoprofène</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>112</b>
Ruscolog	Trimebutine	7	2	2	28
	Ruscogenines	7	2	4	56

**Discussion :**

Les résultats obtenus donnent pour le **kétoprofène** le score le plus élevé (valeur = 112). Le kétoprofène principe actif du **Profenid® suppositoire 100 mg** est choisie comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire selon l'approche traditionnelle.

**2.1.1.2. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE**

Les cotations des critères pour le choix du traceur physicochimique selon l'approche basée sur la PDE sont présentées dans le tableau CIX.

**Tableau CIX : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire selon l'approche basée sur la PDE**

Produit	Principe actif	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité (PDE)	Score
Biofenac®	Diclofenac de sodium	4	3	4	48
Doliprane®	Paracétamol	4	3	3	48
Falgyl®	Métronidazole	5	2	3	20
Gynodermofix	Nitrate de sertaconazole	7	2	3	28
Mepramide	Métoclopramide	7	2	2	56
Painoxam	Piroxicam	7	3	4	82
<b>Profenid</b>	<b>Kétoprofène</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>112</b>
Ruscolog	Trimebutine	7	2	2	28
	Ruscogenines	7	2	(ND) 4*	56

\* : Donnée non disponible (ND), la ruscogénine est extraite du rhizome d'une plante le *Ruscus aculeatus*, le coefficient 4 est attribué par majoration en raison de sa dose unitaire de 10 mg/suppositoire. La ruscogénine serait du même ordre de dangerosité que le diclofenac de sodium et le piroxicam.

**Discussion :**

Les résultats obtenus donnent pour le kétoprofène le score le plus élevé (valeur = 112). Le kétoprofène principe actif du Profenid® suppositoire à 100 mg est choisie comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire selon l'approche basée sur la PDE.

**Selon les deux approches, Le kétoprofène principe actif du Profenid® suppositoire 100 mg est choisi comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire**

**2.1.1. Choix du traceur microbiologique**

Comme indiqué dans le titre 1.2.1.2. Choix du traceur en vue d'une analyse microbiologique, le traceur retenu est le **Profenid® suppositoire 100 mg** car c'est le produit ayant le coefficient de nettoyabilité le plus élevé (très difficile à nettoyer).

**2.2. Etablissement des critères d'acceptation**

**2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique**

**2.2.1.1. Approche traditionnelle**

La limite d'acceptation selon l'approche traditionnelle est l'ARL, elle est calculée comme suit ;

– **Pour le prélèvement par écouvillonnage,**

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{MAR \times L_B \times A_S \times 10^3}{W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$

$$MAR = \frac{T_A \times F_S \times 10^6}{T_B} \text{ en ppm}$$

- MAR (Maximum Allowable Residual) : Chiffre la contamination du produit B par un produit A en tenant compte de la voie d'administration (Facteur de sécurité  $F_S$  associé), il est exprimé en partie par million (multiplication par  $10^6$ ). Si  $MAR > 10$ , sa valeur est arrondie à 10.
- $T_A$  : dose journalière minimale du produit précédent (contaminant) A en mg/jour.
- $T_B$  : dose journalière maximale du produit suivant (contaminé) B en mg/jour.

Les doses journalières  $T_A$  et  $T_B$  sont calculées pour chaque produit tenant compte du dosage, de la posologie et des pathologies traitées. Le tableau CX documente les valeurs de  $T_A$  et  $T_B$  des produits de la ligne suppositoire.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CX Valeurs de  $T_A$  et  $T_B$  des produits de la ligne suppositoire**

Produit	Principe actif	$T_A$ (mg)	Nombre de prises maximale/ jour <sup>(2)</sup>	$T_B$ (mg)
Biofenac®	Diclofénac de sodium	25 mg 100 mg	3	75 100
Doliprane®	Paracétamol	50 <sup>(1)</sup> mg 150 mg 200 mg 300 mg	4	400 600 800 1200
Falgyl®	Métronidazole	500 mg	1	500
Gynodermofix	Nitrate de sertaconazole	300 mg	1	300
Mepramide	Métoclopramide	10 mg	2	20
Painoxam	Piroxicam	20 mg	2	40
Profenid	Kétoprofène	100 mg	2	200
Ruscolog	Trimebutine	120 mg	2	240
	Ruscogenines	10 mg	2	20

(1) : La dose journalière minimale pour le doliprane à 100 mg est la moitié du suppositoire lorsqu'il est prescrit pour un nourrisson.

(2) : Source des données des posologies ; le Vidal en line [155].

–  $A_s$  : surface prélevée en  $m^2$  (souvent  $A_s = 100 \text{ cm}^2 = 0,01 \text{ m}^2$ ).

–  $W_s$  : Surface de contact commune entre le produit A et le produit B en  $m^2$

La surface commune de contact entre les produits est celle de la surface totale de la ligne suppositoire, cette surface est de  $16,983 \text{ m}^2$ .

–  $F_s$  : Facteur de sécurité = 0,001 (forme parentérale).

–  $L_B$  : Taille minimale du lot suivant en kg.

Le tableau CXI résume les doses minimales et maximales et les tailles des lots des produits fabriqués sur la ligne suppositoire.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CXI : Doses minimales et maximales et les tailles des lots des produits fabriqués sur la ligne suppositoire**

Produit	Principe actif	T <sub>A</sub> (mg)	T <sub>B</sub> (mg)	Taille du lot (Kg)
Biofenac®	Diclofénac de sodium	25 mg 100 mg	75 100	150 200
Doliprane®	Paracétamol	50 <sup>(1)</sup> mg 150 mg 200 mg 300 mg	400 600 800 1200	75 100 150 200
Falgyl®	Metronidazole	500 mg	500	125
Gynodermodif	Nitrate de sertaconazole	300 mg	300	120
Mepramide	Métoclopramide	10 mg	20	150
Painoxam	Piroxicam	20 mg	40	200
Profenid	Kétoprofène	100 mg	200	200
Ruscolog	Trimebutine	120 mg	240	200
	Ruscogenines	10 mg	20	

– **Calcul de la valeur de l'ARL**

Pour le calcul de l'ARL de la ligne suppositoire, l'approche simplifiée est appliquée, à savoir ;

- Valeur de T<sub>B</sub> la plus faible de la gamme (T<sub>A</sub> = 10 mg).
- Valeur de T<sub>B</sub> la plus élevée de la gamme (T<sub>B</sub> = 1200 mg).

Dans ces conditions, on obtient une valeur de MAR égale à :

$$MAR = \frac{T_A}{T_B} \times F_S \times 10^6 = \frac{10 \times 10^6 \times 10^{-3}}{1200} = 8,33 \text{ ppm}$$

- Valeur de L<sub>B</sub> la plus faible de la gamme (L<sub>B</sub> = 75 Kg).
- La Surface de la ligne W<sub>S</sub> = 6.086 m<sup>2</sup>.
- Surface prélevée A<sub>S</sub> = 0,01 m<sup>2</sup>.

$$ARL_{\text{Écouvillonnage}} = \frac{8,33 \times 75 \times 0,01 \times 10^3}{6,086} = 1026,53 \text{ } \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

La valeur calculée est jugée trop élevée, car les taches de produit sur une surface d'un équipement sont visibles entre des teneurs de 1 à 4 µg/cm<sup>2</sup> soit de 100 à 400 µg/100 cm<sup>2</sup> avec une moyenne arithmétique de 250 µg/100 cm<sup>2</sup>.

La valeur de l'ARL pour le prélèvement par écouvillonnage est abaissée à 250 µg/100 cm<sup>2</sup>.

$$ARL_{\text{Écouvillonnage}} = 250 \text{ } \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

– **Pour le prélèvement par les eaux de rinçage ;**

$$ARL_{\text{Eaux de rinçage}} = \frac{MAR \times L_B}{V} \text{ en } \mu\text{g}/\text{ml}$$

$$ARL_{\text{Eaux de rinçage}} = \frac{8,33 \times 75}{50} = 12,5 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$$

V = volume total du rinçage des équipements de la ligne suppositoire = 50 litres.

**2.2.1.1. Approche basée sur le calcul de la PDE**

Dans le cas de la gamme des produits fabriqués sur la ligne suppositoire, la substance ayant la la PDE la plus faible est le **kétoprofène** avec une valeur de **0,024 mg/jour**.

Cette valeur est calculée à partir des données des études de toxicité à doses répétées (subaigüe) durant les essais précliniques de développement du médicament.

L'étude de toxicité subaigüe à été effectuée chez le **rat** pendant trois **(03) mois**. La plus faible dose entrainant un effet néfaste (LOAEL) par voie orale est de **6 mg/Kg/jour** [158].

$$PDE = \frac{VTR \times B_W}{F_1 \times F_2 \times F_3 \times F_4 \times F_5}$$

- LOAEL = 6 mg/Kg/jour
- F1 = 5 : Espèce animale est le rat
- F2 = 10 (Valeur prise par convention).
- F3 = 5 : période égale à 3 mois chez un rongeur.
- F4 = 5 : Toxicité réversible des organes : toxicité rénale et toxicité gastro-intestinale.
- F5 = 10 : Valeur toxicologique de référence (VTR) utilisée est la LOAEL.
- Bw = 50 Kg (poids moyen d'un adulte).

$$PDE_{Kétoprofène} = \frac{6 \times 50}{5 \times 10 \times 3 \times 5 \times 10} = 0,024 \text{ mg/jour}$$

La limite d'acceptation obtenue pour cette valeur de PDE minimale est égale à ;

$$ARL_{Ecouvillonnage} = \frac{PDE_A \times L_B \times A_S \times 10^6}{T_B \times W_S} = \frac{0,024 \times 75 \times 0,01 \times 10^6}{1,2 \times 6,086}$$

$$ARL_{Ecouvillonnage} = 2464,7 \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

Le tableau CXII résume les caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et la méthodologie de calcul de la valeur de PDE du kétoprofène.

- **Pour les prélèvements par les eaux de rinçage ;**

La limite résiduelle exprimée en µg/ml des eaux de rinçage est calculée comme suit ;

$$ARL_{eaux\ de\ rinçage} = \frac{PDE_A \times L_B \times 10^3}{V} = \frac{0,024 \times 75 \times 1000}{50} = 36 \mu\text{g/ml}$$

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CXII : Caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et méthodologie de calcul de la valeur de PDE du kétoprofène**

<b>Présentation du produit</b>		
Nom commercial	Profinid®	
DCI	Kétoprofène	
Forme galénique et dosage	Suppositoire à 100 mg	
Ligne de fabrication	Suppositoire	
<b>Données Physicochimiques du principe actif</b>		<b>Références Bibliographiques</b>
Nom chimique (IUPAC)	Acide (2RS)-2-(3-benzoylphényl) propanoïque.	Monographie Kétoprofène. Pharmacopée européenne 9 <sup>ème</sup> édition
Formule chimique brute	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	
Numéro de CAS	[22071-15-4]	
Aspect	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche.	
Solubilité dans l'eau	Pratiquement insoluble	
Solubilité dans l'alcool	Facilement soluble	
Volatilité	Oui	Données internes Biopharm
Nettoyabilité	Très difficile	
<b>Classe thérapeutique : Anti inflammatoire non stéroïdien</b>		
<b>Données toxicologiques (toxicité aiguë) du principe actif</b>		
Espèces animales / Voie	Souris (orale), Rat (orale)	MSDS Ketoprofen, USP convention version 3.0 page 4 date de révision 23/07/2015
DL 50	360 mg/Kg, 62,4 mg/Kg	
<b>Données toxicologiques (toxicité à doses répétées) du principe actif</b>		
Espèce animale / Voie	Rat (voie orale)	MSDS Kétoprofène, Zoetis, Page 6. Version 2.5, Date de révision 20 Mars 2015
Durée d'étude	3 mois	
Effets observés	Gastro-intestinal, rénal et sanguin	
Valeur toxicologique (NOEL, NOAEL, LOAEL)	NOAEL = 6 mg/Kg/jour	
<b>Dangerosité et classement de la substance</b>		
Génotoxicité	Non	MSDS Kétoprofène, Zoetis, Page 6. Version 2.5, Date de révision 20 Mars 2015
Reprotoxicité	Oui	
Toxicité des organes	Oui (réversible)	
Pouvoir sensibilisant	Oui (irritation, allergies)	
<b>Facteurs de sécurité et calcul de la PDE</b>		
F1 : Extrapolation entres les espèces (2 – 12)	<b>F1 = 5</b> Extrapolation : Rat → Etre humain	
F2 : Variabilité inter individuelle	<b>F2 = 10</b> (Conventionnellement utilisée pour tenir compte de la différence entre les individus dans la population humaine).	
F3 : Etudes de toxicité aiguë ou chronique (1-10)	<b>F3 = 3</b> Basé sur des études de toxicité à doses répétées chez le rat (3 mois)	
F4 : Toxicité sévère (1-10)	<b>F4 = 5</b> Toxicité réversible des organes	
F5 : Valeur toxicologique utilisée (1 – 10)	<b>F5 = 3</b> Valeur toxicologique utilisée est la NOAEL	
Valeur de la PDE	<b>PDE = 0,024 mg/ jour</b>	

**2.2.1.2. Comparaison entre les valeurs obtenues avec les deux approches**

D'après les résultats obtenus à partir des deux approches, il est bien évident que les limites les plus strictes sont celles obtenues avec l'approche traditionnelle à savoir :

- Prélèvement par écouvillonnage : Limite = 250 µg/100cm<sup>2</sup>.
- Prélèvement par les eaux de rinçage : Limite = 12,7 µg/ml.

**La validation du nettoyage de la ligne suppositoire étant déjà validée selon l'approche traditionnelle, l'introduction de l'approche PDE n'a aucun impact sur la validité du nettoyage de ladite ligne de fabrication.**

**2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique**

Le nombre limite de microorganismes par unité de surface est fixé selon des normes internes en faisant référence aux pharmacopées en vigueur comme suit ;

- Prélèvement par écouvillonnage : DGAT et DMLT < 200 ufc/100 cm<sup>2</sup>.
- Prélèvement par les eaux de rinçage : DGAT et DMLT < 10000 ufc.

Pour la recherche des germes spécifiés : Deux germes sont concernés, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Aucune colonie de ces germes ne doit être retrouvée dans les prélèvements.

**2.3. Méthodes d'analyse**

**2.3.1. Méthode d'analyse physicochimique : Dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage**

La méthode de dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage et les eaux de rinçage dans le cadre de la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire est validée au niveau du laboratoire de contrôle qualité de Biopharm industrie, selon la procédure de validation de l'entreprise. Nous présentons ci-après les résultats de validation des principaux critères à savoir ; la linéarité, la répétabilité et les limites de détection et de quantification.

**A. Linéarité :**

**Tableau CXIII : Données de la linéarité de la méthode de dosage de kétoprofène**

Niveau de linéarité expérimentale en (%)	Prise d'essai de kétoprofène (mg)	Concentration de kétoprofène en µg/ml	Aire du pic de kétoprofène (moyenne par concentration)
80%	20,11	20,11	7,791
90%	22,77	22,77	8,876
100%	25,12	25,12	9,889
110%	27,75	27,75	10,753
120%	30,51	30,51	12,027

**Remarque :**

- La limite d'acceptation de la ligne suppositoire est de 250 µg/100 cm<sup>2</sup> et le volume du solvant d'extraction est de 10 ml, la limite d'acceptation exprimée en unité de concentration est donc 250 µg/ 10 ml soit 25 µg/ml.

La solution standard à 100% de la valeur de l'ARL est préparée comme suit ;

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE

Dans une fiole de 100 ml, peser 25 mg du kétoprofène standard. Dissoudre dans un volume suffisant du diluant et compléter au trait de jauge avec le même solvant.

Diluer cette solution au 1/10<sup>ème</sup> dans le diluant.

– La validation analytique est faite sur une chaîne HPLC – DIONEX.

La figure 34 présente la droite d'étalonnage obtenue pour le paramètre linéarité.

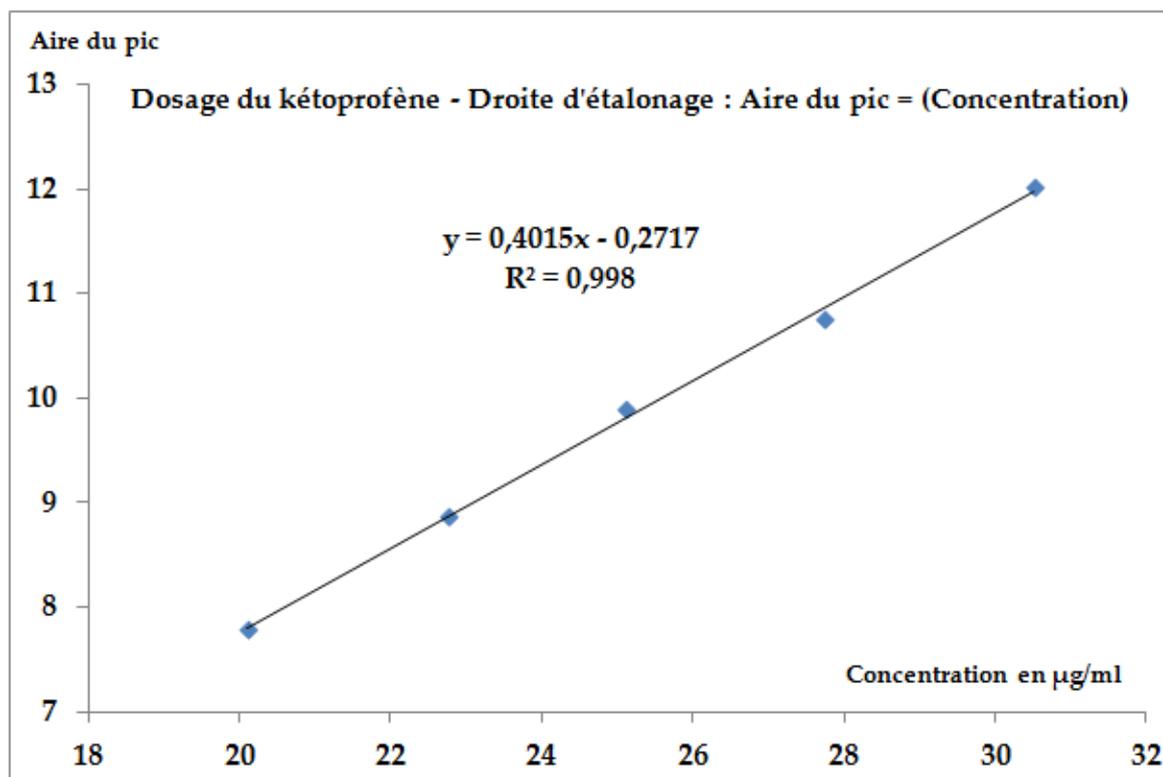


Figure 34 : Linéarité –Droite d'étalonnage - Aire du pic de kétoprofène = f(concentration)

### Discussion

La méthode présente une bonne corrélation ( $R^2 = 0,998$ ) entre les aires du pic et les concentrations dans l'intervalle de 21,11 µg/ml à 30,51 µg/ml.

### B. Répétabilité

Tableau CXIV : Répétabilité de la méthode de dosages de traces de kétoprofène

Solution plaque 100% (répétition)	Concentration de kétoprofène déposé en µg/ml (1 ml de la solution standard 100%)	Concentration de kétoprofène retrouvé en µg/ml (solution plaque 100%)	Rendement de recouvrement en %
1	25,52	20,62	80,80
2	25,52	20,08	78,68
3	25,52	19,99	78,33
4	25,52	21,31	83,50
5	25,52	20,24	79,31
6	25,52	20,79	81,47
		<b>Moyenne</b>	<b>80,35</b>
		<b>Ecart type</b>	<b>1,97</b>
		<b>RSD % (&lt; 5%)</b>	<b>2,45</b>

**Discussion**

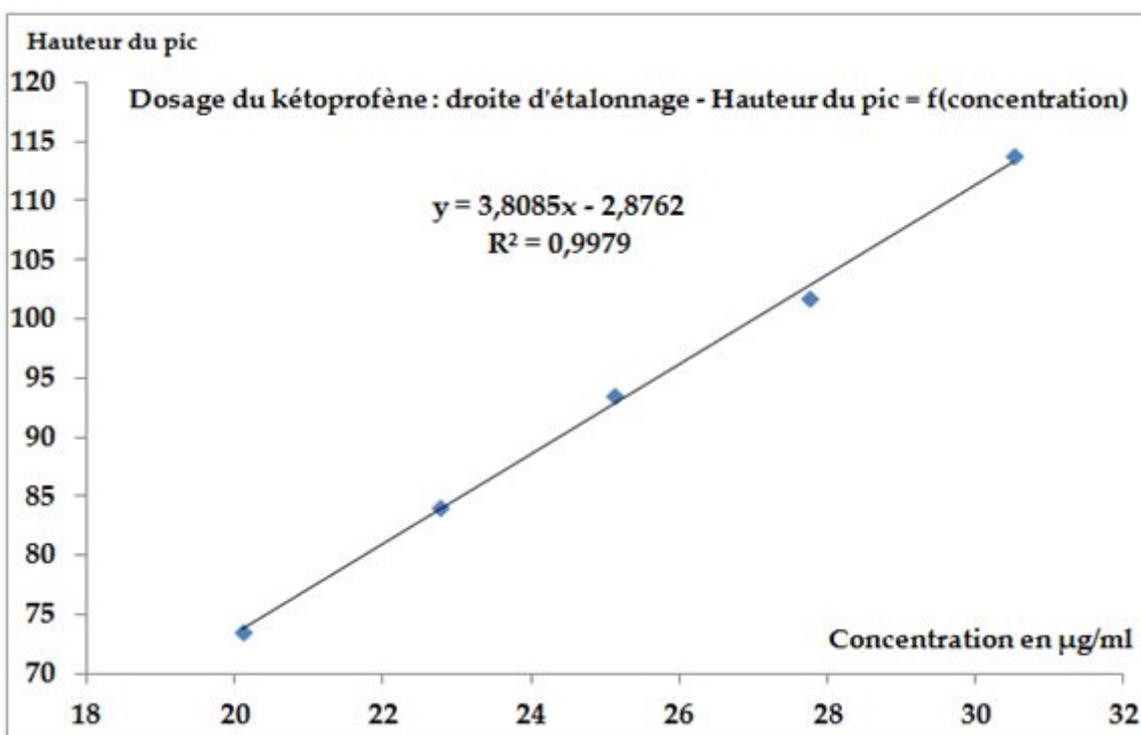
Le coefficient de variation des six (06) répétitions de la préparation et de l'analyse de la solution plaque 100% est de 2,45%. La norme retenue est de 5%, la méthode de dosage des traces du kétoprofène est jugée répétable.

**C. Limite de détection et de quantification**

Les limites de détection et de quantification sont déterminées à partir de la droite d'étalonnage : hauteur du pic de kétoprofène en fonction de sa concentration, suivant la méthode décrite dans le guide ICH Q2(R1).

**Tableau CXV : Données brutes pour la détermination de la LOD et la LOQ de la méthode de dosage de kétoprofène**

Niveau de linéarité en (%)	Concentration de kétoprofène en µg/ml	Hauteur du pic de kétoprofène (la moyenne par concentration)
80%	20,11	73,518
90%	22,77	83,984
100%	25,12	93,537
110%	27,75	101,698
120%	30,51	113,744



**Figure 35 : Droite d'étalonnage - Hauteur du pic de kétoprofène = f(concentration)**

Equation de la droite : Hauteur = f(concentration) :  $H = 3,8085 x - 2,8762$ , l'erreur de l'ordonnée à l'origine  $\sigma_b$  est calculée par le logiciel origine 6.0 ( $\sigma_b = 0,9579$ ).

$$LOD = \frac{3,3 \times \sigma_b}{a} = 0,83 \mu\text{g/ml}$$

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma_b}{a} = 2,45 \mu\text{g/ml}$$

**Discussion :**

La limite de quantification de la méthode est inférieure à la limite d'acceptation pour la validation du nettoyage de la ligne suppositoire (eaux de rinçage = 12,7 µg/ml et écouvillonnage = 250 µg/ml équivalente à 25 µg/ml).

**La méthode peut donc quantifier les taux résiduels du kétoprofène dans les différents types de prélèvement au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne suppositoire.**

**2.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques**

Les méthodes d'analyse microbiologique (dénombrement microbien et recherche des germes spécifiés) sont communes pour les validations de nettoyage des équipements de fabrication et de la centrale de pesée et de la ligne crème et gel.

**2.4. Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage**

Au même titre que la validation de la méthode analytique, la méthode de prélèvement a été validée sur 3 niveaux de concentrations (50%, 100% et 150%) de la limite d'acceptation.

Le taux de recouvrement moyen calculé est 86,1%. Les résultats de la détermination des rendements d'extraction et des taux de recouvrement sont présentés dans le tableau CXVI.

**D'après ce tableau, la moyenne des taux de recouvrement des trois niveaux de concentrations est de 86,1% avec un coefficient de variation de 5,8%**

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CXVI : Détermination des rendements d'extraction de la méthode de prélèvement par écouvillonnage du kétoprofène – validation du nettoyage de la ligne suppositoire**

Validation du prélèvement de kétoprofène / contamination des écouvillons			Validation du prélèvement de kétoprofène / contamination des plaques		
Concentration en %	Rendement d'extraction en %		Concentration en %	Taux de recouvrement en %	
	Rendements obtenus			Rendements obtenus	
50%	Jour 1	90	50%	Jour 1	81
	Jour 2	94		Jour 2	87
	Jour 3	90		Jour 3	93
Moyenne		91	Moyenne		87
Ecart type		2	Ecart type		6
% RSD		2	% RSD		7
100%	Jour 1	91	100%	Jour 1	79
	Jour 2	92		Jour 2	87
	Jour 3	91		Jour 3	89
Moyenne		91	Moyenne		85
Ecart type		1	Ecart type		5
% RSD		1	% RSD		6
150%	Jour 1	91	150%	Jour 1	81
	Jour 2	90		Jour 2	90
	Jour 3	92		Jour 3	91
Moyenne		91	Moyenne		87
Ecart type		1	Ecart type		6
% RSD		1	% RSD		6
Moyenne totale		91,2 %	Moyenne totale		86,1 %
% RSD total		1,4%	% RSD total		5,8%

**2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage de la ligne suppositoire**

Les équipements de la ligne suppositoire sont nettoyés après fabrication d'un lot de **Profenid® suppositoire 100 mg** et ce, à 3 reprises.

Les prélèvements en vue des analyses physicochimiques et microbiologiques ont été réalisés selon le plan de prélèvements retenu. Le dosage des traces du kétoprofène et le dénombrement des microorganismes dans les différents types de prélèvements ont été effectués. Les résultats obtenus ont été comparés aux limites d'acceptation.

**2.5.1. Résultats de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire**

**2.5.1.1. Inspection visuelle des équipements**

Après nettoyage des équipements de la ligne suppositoire, une inspection visuelle des équipements notamment les endroits difficilement accessibles a été effectuée pour vérifier l'absence des résidus visibles du produit.

Les résultats sont présentés dans le tableau CXVII pour les trois jours de validation.

**Tableau CXVII : Résultats de l'inspection visuelle des équipements de la ligne suppositoire – Jours 1, 2 et 3**

jours	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
Jour 1, 2 et 3	Cuve de préparation	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Pompe de transfert	Non		Conforme
	Accessoires de travail	Non		Conforme
	Flexible préparation	Non		Conforme
	Cuve de stockage	Non		Conforme
	Station de dosage	Non		Conforme
	Pompe de recyclage	Non		Conforme
	Flexible conditionnement primaire	Non		Conforme

**2.5.1.2. Inspection visuelle des prélèvements**

Les écouvillons et les eaux de rinçages après prélèvement sont vérifiés pour absence des taches ou des particules étrangères.

Les résultats sont présentés dans les tableaux CXVIII et CXIX.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CXVIII : Résultats de l'inspection visuelle des écouvillons après prélèvement des équipements de la ligne suppositoire – Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	Présence de taches sur les écouvillons	Norme	Statut
Jour 1, 2 et 3	Cuve de préparation – Vanne inférieur	Non	Absence de taches visibles sur les écouvillons	Conforme
	Cuve de préparation – Haut de la cuve	Non		Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	Non		Conforme
	Cuve de stockage – Haut	Non		Conforme
	Pompe de transfert	Non		Conforme
	Flexible de préparation	Non		Conforme
	Station de dosage – injecteurs	Non		Conforme
	Station de dosage – chambre	Non		Conforme
	Station de dosage – clapets	Non		Conforme
	Pompe de recyclage	Non		Conforme
	Flexibles de conditionnement	Non		Conforme
	Accessoires de travail	Non		Conforme

**Tableau CXIX : Résultats de l'inspection visuelle des eaux de rinçage après prélèvement des équipements de la ligne suppositoire – Jour 1,2 et 3**

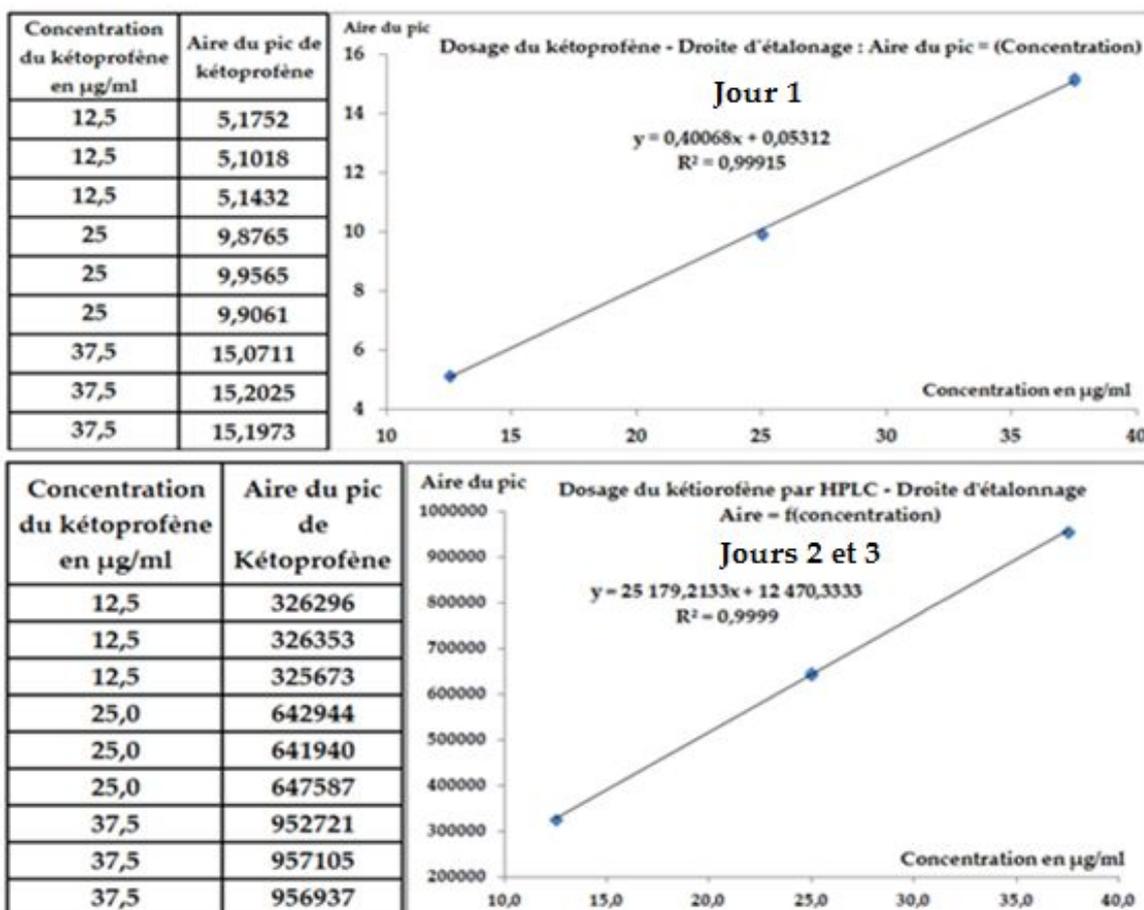
Jours	Points prélevés	Présence de taches sur les écouvillons	Norme	Statut
Jour 1, 2 et 3	Cuve de préparation	Non	Absence de particules étrangères ou changement d'aspect	Conforme
	Cuve de stockage	Non		Conforme
	Flexibles de préparation	Non		Conforme
	Pompe de transfert	Non		Conforme
	Pompe de recyclage	Non		Conforme
	Station de dosage	Non		Conforme
	Flexibles de conditionnement	Non		Conforme
	Accessoires de travail	Non		Conforme

**2.5.1.3. Analyse physicochimique : Dosage des traces du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.**

- **Préparation de la gamme d'étalonnage :** Une gamme d'étalonnage comprenant trois niveaux de concentrations a été préparée, une droite d'étalonnage est tracée pour quantifier le kétoprofène dans les prélèvements.
- **Note :** Le dosage des prélèvements du jour 1 est réalisé sur une chaîne HPLC – DIONEX.
- Le dosage des prélèvements des jours 2 et 3 est réalisé sur une autre chaîne HPLC (Waters – 2695 détection UV-Visible).

**Etablissement des droites d'étalonnage**

La figure 36 présente les droites d'étalonnage obtenues pendant les 3 jours de validation de nettoyage.



**Figure 36 : Droite d'étalonnage – Aire du pic de kétoprofène = f(concentration), jours 1, 2 et 3**

**A. Dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage**

Les prélèvements par écouvillonnage sont repris à l'intérieur des tubes à vis par 10 ml de solvant d'extraction. Les solutions ainsi obtenues sont injectées dans les chromatographes. Les concentrations en kétoprofène sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage en tenant compte du taux de recouvrement de 86,1%.

La quantité résiduelle du kétoprofène par unité de surface au niveau des points de prélèvement est donnée par les formules suivantes :

$$\text{Jour 1 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} - 0,05312)}{0,861 \times 0,40068} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

$$\text{Jour 2 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} - 12470,3333)}{0,861 \times 25179,2133} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

$$\text{Jour 3 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} - 12470,3333)}{0,861 \times 25179,2133} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

Avec :  $A_{ech}$  est la surface du pic de kétoprofène dans la solution échantillon.

Les résultats obtenus pour les 3 jours sont présentés dans le tableau CXX.

**Remarque :**

- La série des prélèvements du jour 1 de nettoyage a été analysée sur un chromatographe de marque DIONEX.
- Les séries de prélèvements des jours 2 et 3 ont été analysées ensemble en utilisant la même gamme d'étalonnage sur un chromatographe de marque Waters.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CXX : Validation du nettoyage de la ligne suppositoire : Dosage des traces du  
kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	Aéch	Quantité résiduelle en $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	Norme	Statut du nettoyage
Jour 1	Cuve de préparation – Vanne inférieur	1,614	45,2	< 250 $\mu\text{g} / 100\text{ cm}^2$	Conforme
	Cuve de préparation – Haut de la cuve	0,285	6,7 (< LOD)		Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	4,261	122,0		Conforme
	Cuve de stockage – Haut	2,722	77,4		Conforme
	Pompe de transfert	1,558	43,6		Conforme
	Flexible de préparation	0,823	22,3		Conforme
	Station de dosage – injecteurs	0,277	6,5(< LOD)		Conforme
	Station de dosage – chambre	< LOD	< LOD		Conforme
	Station de dosage – clapets	0,252	5,8		Conforme
	Pompe de recyclage	< LOD	< LOD		Conforme
	Flexibles de conditionnement	0,112	1,7 (< LOD)		Conforme
	Accessoires de travail	0,123	2,0 (< LOD)		Conforme
Jour 2	Cuve de préparation – Vanne inférieur	8269	< LOD	< 250 $\mu\text{g} / 100\text{ cm}^2$	Conforme
	Cuve de préparation – Haut de la cuve	2804	< LOD		Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	6836	< LOD		Conforme
	Cuve de stockage – Haut	5627	< LOD		Conforme
	Pompe de transfert	11688	< LOD		Conforme
	Flexible de préparation	153784	65,2		Conforme
	Station de dosage – injecteurs	6754	< LOD		Conforme
	Station de dosage – chambre	6425	< LOD		Conforme
	Station de dosage – clapets	3819	< LOD		Conforme
	Pompe de recyclage	1573	< LOD		Conforme
	Flexibles de conditionnement	6085	< LOD		Conforme
	Accessoires de travail	15197	1,2 (< LOD)		Conforme
Jour 3	Cuve de préparation – Vanne inférieur	54599	19,4	< 250 $\mu\text{g} / 100\text{ cm}^2$	Conforme
	Cuve de préparation – Haut de la cuve	69134	26,1		Conforme
	Cuve de stockage – vanne inférieur	3911	< LOD		Conforme
	Cuve de stockage – Haut	3773	< LOD		Conforme
	Pompe de transfert	7915	< LOD		Conforme
	Flexible de préparation	87646	34,7		Conforme
	Station de dosage – injecteurs	8495	< LOD		Conforme
	Station de dosage – chambre	1514	< LOD		Conforme
	Station de dosage – clapets	18199	2,6 (< LOD)		Conforme
	Pompe de recyclage	1885	< LOD		Conforme
	Flexibles de conditionnement	189219	81,5		Conforme
	Accessoires de travail	13165	< LOD		Conforme

LOD = 0,83 $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Les données brutes (chromatogrammes) sont présentées dans l'annexe III.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**B. Dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage**

Les eaux de rinçage sont injectées directement dans les chromatographes. Les concentrations en kétoprofène sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage.

La quantité résiduelle du kétoprofène en µg/ml est donnée par les formules suivantes :

$$\text{Jour 1 : Quantité résiduelle} = \frac{(A_{ech}-0,05312)}{0,40068} \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Jour 2 : Quantité résiduelle} = \frac{(A_{ech}-12470,3333)}{25179,2133} \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Jour 3 : Quantité résiduelle} = \frac{(A_{ech}-12470,3333)}{25179,2133} \mu\text{g/ml}$$

Avec :  $A_{ech}$  est la surface du pic de kétoprofène dans la solution échantillon.

Les résultats obtenus pour les trois sont présentés dans le tableau CXXI.

**Tableau CXXI : Validation du nettoyage de la ligne suppositoire : Dosage des traces du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	$A_{ech}$	Quantité résiduelle en µg/ml	Norme	Statut du nettoyage
Jour 1	Cuve de préparation –	0,242	0,5 (< LOD)	< 12,7 µg / ml	Conforme
	Cuve de stockage	0,739	1,7		Conforme
	Pompe de transfert	1,149	2,7		Conforme
	Flexible de préparation	0,175	0,3		Conforme
	Station de dosage	< LOD	< LOD		Conforme
	Pompe de recyclage	< LOD	< LOD		Conforme
	Flexible de conditionnement	0,117	0,2 (< LOD)		Conforme
	Accessoires de travail	0,082	0,1 (< LOD)		Conforme
Jour 2	Cuve de préparation –	12051	< LOD	< 12,7 µg / ml	Conforme
	Cuve de stockage	3854	< LOD		Conforme
	Pompe de transfert	15378	0,12 (< LOD)		Conforme
	Flexible de préparation	31863	0,77		Conforme
	Station de dosage	2225	< LOD		Conforme
	Pompe de recyclage	3748	< LOD		Conforme
	Flexible de conditionnement	4596	< LOD		Conforme
	Accessoires de travail	4988	< LOD		Conforme
Jour 3	Cuve de préparation –	11719	< LOD	< 12,7 µg / ml	Conforme
	Cuve de stockage	18531	0,24		Conforme
	Pompe de transfert	5769	< LOD		Conforme
	Flexible de préparation	3356	< LOD		Conforme
	Station de dosage	8569	< LOD		Conforme
	Pompe de recyclage	Non détecté	< LOD		Conforme
	Flexible de conditionnement	2391	< LOD		Conforme
	Accessoires de travail	2695	< LOD		Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**2.5.1.4. Analyse microbiologique**

Les résultats des analyses microbiologiques (DGAT, DMLT et recherche des germes spécifiés) dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage sont présentés dans les tableaux CXXII et CXXIII.

**Tableau CXXII : Résultats de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire. Analyse microbiologique. Prélèvement par écouvillonnage, jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100cm <sup>2</sup> )	200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	
Jour 1	Cuve de préparation	138	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible préparation	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	64	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de dosage	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de recyclage	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible conditionnement primaire	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
Jour 2	Cuve de préparation	09	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible préparation	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	06	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de dosage	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de recyclage	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible conditionnement primaire	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
Jour 3	Cuve de préparation	03	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible préparation	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	05	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de dosage	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de recyclage	NA	NA	Absence	Absence	Conforme
	Flexible conditionnement primaire	NA	NA	Absence	Absence	Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CXXIII : Résultats de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire. Analyse microbiologique – Prélèvement par les eaux de rinçage, jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	10000		Absence	Absence	
Jour 1	Cuve de préparation	56	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	03	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible préparation	03	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	33	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de dosage	160	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de recyclage	136	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible conditionnement	03	00	Absence	Absence	Conforme
Jour 2	Cuve de préparation	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible préparation	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de dosage	02	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de recyclage	02	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible conditionnement	00	00	Absence	Absence	Conforme
Jour 3	Cuve de préparation	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de transfert	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible préparation	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Cuve de stockage	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de dosage	02	00	Absence	Absence	Conforme
	Pompe de recyclage	02	00	Absence	Absence	Conforme
	Flexible conditionnement	00	00	Absence	Absence	Conforme

**2.5.1.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage**

Les résultats de la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage par méthode colorimétrique (méthode validée par le fournisseur) sont présentés dans le tableau CXXIV.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE III : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE LA LIGNE SUPPOSITOIRE**

**Tableau CXXIV : Résultats de la validation du nettoyage de la ligne suppositoire.  
Recherche des traces du détergent – Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	Colorations			Traces du détergent	Norme	Statut
		Phase inférieur	Phase supérieur	Anneau d'émulsion			
Jour 1, 2 et 3	Cuve de préparation	Aucune	Violette	Aucune	Absence	< 0,5 ppm	Conforme
	Pompe de transfert	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Accessoires de travail	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Flexible préparation	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Cuve de stockage	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Pompe de dosage	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Pompe de recyclage	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Flexible de conditionnement	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Témoin C	Aucune	Violette	Aucune	Présence	Témoin positif	
Témoin A	Grise	Bleue	Grise – bleue	Absence	témoin négatif		

**2.5.2. Discussion :**

A l'issue de chaque fabrication industrielle d'un lot du médicament **Profenid® suppositoire 100 mg**, un nettoyage des équipements de la ligne suppositoire a été effectué selon la procédure de nettoyage, une série de contrôles a été réalisée afin de statuer sur la validité du procédé de nettoyage.

- L'inspection visuelle de la ligne suppositoire après nettoyage a montré l'absence des traces visibles de produit sur les surfaces des équipements.
- L'aspect des prélèvements (écouvillons et eaux de rinçage) est conforme aux spécifications préétablies.
- Les taux résiduels du kétoprofène trouvés dans les deux types de prélèvements (écouvillonnage et eaux de rinçage) après fabrication à trois reprises du produit fini **Profenid® suppositoire 100 mg** et nettoyage des équipements de la ligne suppositoire, sont inférieurs à la limite d'acceptation et ce, pour chaque point prélevé et pour chaque type de prélèvement, ce qui atteste la validité du nettoyage de cette ligne de point de vue physicochimique.
- Le dénombrement microbien (DGAT + DMLT) et la recherche des germes spécifiés (*E. Coli* et *P. aeruginosa*) dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage sont inférieurs aux limites spécifiées. Le nettoyage de la ligne suppositoire est donc valide de point de vue microbiologique.
- Les traces du détergent ont été recherchées dans les eaux de rinçage pour analyse physicochimique, les résultats obtenus démontrent l'absence de traces du détergent dans le prélèvement en question et par suite sur les surfaces des équipements.

### **3. Conclusion**

Le nettoyage des équipements de la ligne suppositoire a fait objet de validation selon la stratégie des « **pires cas** » et suivant les deux approches, traditionnelle et la nouvelle basée sur la dose journalière admissible (PDE) d'un contaminant.

Pour chacune des deux approches, des critères de sélection ont été définis et des échelles pour la cotation de ces critères ont été établies. Un score final comme critère de jugement a été calculé pour chaque produit. Le produit pire cas correspond à celui ayant obtenu le score le plus élevé.

La validation du nettoyage de la ligne suppositoire étant déjà validée selon l'approche traditionnelle, l'introduction de l'approche PDE n'a eu aucun impact sur la validité du nettoyage de ladite ligne de fabrication.

Pour le dosage du kétoprofène à l'état des traces, une méthode de dosage par HPLC est mise au point au Laboratoire de Contrôle Qualité de Biopharm industrie, la méthode est adaptée à la limite d'acceptation de la ligne suppositoire et validée selon la méthodologie de validation analytique de l'entreprise. Cette méthode est caractérisée par une limite de détection de 0,83 µg/ml et une limite de quantification de 2,45 µg/ml.

Les taux de recouvrement de la méthode de prélèvement par écouvillonnage en vue du dosage des traces de kétoprofène, sont déterminés sur une gamme de trois (03) niveaux de concentrations. Le taux de recouvrement moyen obtenu est de 86,1% avec un RSD 5,8%.

Un plan de prélèvements a été établi et les points critiques de la ligne suppositoire ont été définis. Deux modes de prélèvement ont été utilisés à savoir ; le prélèvement par écouvillonnage et par les eaux de rinçage.

La reproductibilité de l'efficacité du procédé de nettoyage à été démontrée à trois reprises après fabrication du « **produit pire cas** » et nettoyage des équipements. Tous les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques et microbiologiques ont été conformes aux spécifications préétablies.

**Le nettoyage des équipements de fabrication de la ligne suppositoire de Biopharm industrie est donc valide selon la stratégie des pires cas.**

# **CHAPITRE IV**

## **VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

Le présent chapitre a pour objet de documenter la méthodologie et les résultats de la validation du nettoyage des équipements de la ligne des formes sèches – comprimés - de Biopharm industrie. Le protocole de validation proposé fait référence aux exigences réglementaires et de qualité des BPF, à la littérature scientifique et à la politique qualité de l'entreprise.

## **1. Matériel et méthodes**

### **1.1. Matériel**

#### **1.1.1. Description de la ligne des formes sèches - comprimés -**

La ligne de fabrication des formes sèches - comprimés - de Biopharm industrie est composée de plusieurs ateliers, pour cette partie nous avons retenu les ateliers et les équipements suivants ;

- **Atelier de granulation** composé d'un ;
  - Granulateur,
  - Sécheur,
  - Concasseur,
  - Mélangeur,
  - Tamiseur,
  - Vibreur,
  - Elévateur mobile et un chariot.
- **Le mélangeur octogonal.**
- **Un atelier de compression** composé des parties et équipements suivants ;
  - Trémie,
  - Connecteur de la trémie,
  - Distributeur,
  - Tourelle,
  - Passerelle de séparation,
  - Dépoussiéreur,
  - Poinçons.
- **La pelliculeuse**, composé d'un tambour et d'un racleur.
- **Un atelier de conditionnement**, composé des parties suivantes ;
  - Trémie,
  - Décante de la trémie,
  - Disque de distribution,
  - Distributeur,
  - Brosses (dédiées par produit).
  - Racleurs

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**1.1.2. Gamme de production de la ligne de fabrication des formes sèches – comprimés.**

Sur la ligne de production des formes sèches - comprimés – de Biopharm industrie, sont fabriqués des médicaments appartenant à plusieurs classes thérapeutiques. Le tableau CXXV énumère les différents produits fabriqués sur cette ligne et leurs classes thérapeutiques.

**Remarque :** Nous listons dans ce tableau uniquement les produits commercialisés, ceux qui sont en cours de développement ne sont pas cités pour des raisons de confidentialité. Cette restriction n'a pas eu d'impact sur le choix des traceurs et l'établissement des critères d'acceptation.

**Tableau CXXV : Gamme de production de la ligne des formes sèches - Comprimés**

N	Nom commercial	Nom du principe actif (DCI)	Dosage unitaire	Classe / indications thérapeutique
1	Aspirine® cardio	Acide acétylsalicylique	100 mg	Anti-agrégant plaquettaire (à faibles doses)
2	Atacand®	Candesartan cilexétil	16 mg 8 mg	Antihypertenseur (antagoniste des récepteurs de l'angiotensine II (ARA II))
3	Biodazole®	Métronidazole	500 mg	Antiparasitaire
4	Biofenac®	Diclofenac de sodium	25 mg 50 mg	Anti inflammatoire non stéroïdien (AINS)
5	Biofenac® LP	Diclofenac de sodium	75 mg 100 mg	AINS
6	Bispiradent®	Spiramycine Métronidazole	1,5 M. UI 250 mg	Antibiotique (Macrolide) Antiparasitaire
7	Celetasone®	Betamethasone	2 mg	Anti inflammatoire stéroïdien
8	Clopix®	Clopidogrel bisulfate	75 mg	Antiagrégant plaquettaire
9	Co irbevel®	Irbesartan – hydrochlorothiazide	300 mg 25 mg	Antihypertenseur (ARA II) Diurétique
10	Co irbevel®	Irbesartan – hydrochlorothiazide	300 mg 12,5 mg	Antihypertenseur (ARA II) Diurétique
11	Corect®	Acarbose	50 mg	Antidiabétique oral (inhibiteur de l'alpha glucosidase)
12	Dolirhume®	Paracétamol - Pseudophedrine	500 mg 30 mg	Antalgique – antipyrétique Décongestionnant nasal
14	Dromax	Acide alendronique	70 mg	Traitement de l'ostéoporose
13	Fenoxam®	Piroxicam	20 mg	AINS
14	Glotix®	Gliclazide	60 mg	Antidiabétique oral
16	Hexor	sildenafil citrate	50 mg	Traitement des troubles érectiles
17	Hytacand®	Candesartan cilextil – Hydrochlorothiazide	8 mg 12,5 mg	Antihypertenseur (ARA II) Diurétique
18	Hytacand®	Candesartan cilextil – Hydrochlorothiazide	8 mg 12,5 mg	Antihypertenseur (ARA II) Diurétique
19	Irbevel®	Irbesartan	150 mg 300 mg	Antihypertenseur (ARA II)

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

20	Largactil®	Chlorhydrate de chlorpromazine	100 mg	Neuroleptique (antipsychotique)
21	Neupax®	Carbamazepine	200 mg	Antiépileptique
22	Neurica® <sup>(1)</sup>	Prégabaline	75 mg	Antalgique, Antiépileptique Anxiolytique
23	Nobac®	Alginate de sodium Bicarbonate de sodium		Pansement gastrique
24	Olanzomax®	Olanzapine	10 mg	Antipsychotique (thymorégulateur)
25	Rispa®	Risperidone	1 mg 2 mg 4 mg	Neuroleptique
26	Rivasti® <sup>(1)</sup>	Rivastigmine hydrogène tartrate	1,5 mg 3 mg 4,5 mg	inhibiteurs de la cholinestérase (traitement des symptômes de la maladie d'Alzheimer)
27	Spira®	Spiramycine	1,5 M 3 M	Antibiotique (Macrolide)
28	Spiradent®	Spiramycine Métronidazole	750000 UI 125 mg	Antibiotique (macrolide) Antiparasitaire
29	Synosia®	Donepezil HCl	10 mg	inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer)
30	Terbinan®	Terbinafine	250 mg	Antiparasitaire
32	Tramgesic® <sup>(1)</sup>	Tramadol HCl	37,5 mg	Antalgique
33	Xamadol®	Paracetamol - Tramadol	325 mg 37,5 mg	Antalgique antalgique
34	Zolify®	Aripiprazole	15 mg	Neuroleptique (traitement de la manie et des troubles bipolaires)

<sup>(1)</sup> : Formes gélules ayant un process commun (granulation et lubrification) avec les comprimés.

### 1.1.3. Matériel de contrôle

La multitude des produits fabriqués sur la ligne des formes sèches et la diversité dans les procédés de fabrication (fabrication à partir de matières premières ou de premix, comprimés nus ou pelliculés...), font de sorte que, la ligne en question dispose de plusieurs produits pires cas. Pour les équipements retenus dans le présent travail, deux produits pires cas sont dégagés, en l'occurrence ; **le candesartan cilexétel et l'irbesartan**.

Etant donné que les méthodes d'analyse des contaminants à l'état de traces, sont réalisées par HPLC à détection UV. Le matériel de contrôle utilisé pour cette partie est le même que celui utilisé dans le cadre de la validation du nettoyage des lignes précédentes (crème et gel, suppositoires). Des standards de travail des deux principes actifs suscités sont utilisés.

## 1.2. Méthodes

Les étapes de validation du nettoyage de la ligne de fabrication des comprimés selon l'approche « **pires cas** » sont identiques à celles observées pour la validation du nettoyage des lignes crème et gel et suppositoire, à savoir ;

- Choix du traceur.
- Détermination des critères d'acceptation.
- Validation de la méthode de dosage du contaminant à l'état de traces.
- Validation de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.
- Reproductibilité du procédé de nettoyage.

### 1.2.1. Choix du traceur

#### 1.2.1.1. Choix du traceur physicochimique

Le choix du traceur physicochimique est fait selon les deux approches, traditionnelle (ancienne) et la nouvelle basée sur la PDE, ces deux approches en terme de méthodologie sont identiques à celles appliquées à la validation du nettoyage de la ligne crème et gel et de la ligne suppositoire.

**A. Approche traditionnelle :** Pour la validation du nettoyage des équipements de la ligne des formes sèches - comprimés - retenus dans le cadre de la présente étude, deux produits pires cas sont définis ;

- L'**Irbesartan** est retenu comme produit **pire cas** pour les équipements de granulation, la trémie et le fut de la comprimeuse et la pelliculeuse.
- Le **candesartan cilexétil** qui est le produit **pire cas** pour : le mélangeur octogonal, la comprimeuse (à l'exception du fut et de la trémie) et l'atelier de conditionnement primaire.

Les résultats sont documentés dans la partie résultats et discussion.

#### **B. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE**

Les valeurs de PDE sont calculées pour chaque principe actif (données internes établies dans le cadre de la présente thèse), les coefficients attribués pour paramètre toxicité (dangerosité) sont présentés dans le tableau CXXVI.

**Tableau CXXVI : Cotation du critère dangerosité des produits fabriqués sur la ligne des formes sèches – comprimés - selon les valeurs de la PDE**

Intervalle pour les valeurs de PDE	Principes actifs	Coefficients attribués
≤ 1,5 µg	Risperidone	6
]1,5 µg – 10 µg[	Betamethasone, rivastigmine tartrate.	5
[10 µg – 100 µg[	Candesartan celixétil, olanzapine, piroxicam tramadol HCl,	4
[100 µg – 1000 µg[	Acide acétylsalicylique, acide alendronique (Alendronate), aripiprazole, bisoprolol fumarate, diclofenac de sodium, donepezil HCl, hydrochlorothiazide, Métronidazole, chlorpromazine chlorhydrate, phenylephrine (HCl), pregabaline, sildenafil citrate, terbinafine HCl	3
[1 mg – 10 mg[	Acarbose, caféine, carbamazépine, clopidogrel bésulfate, gliclazide, irbesartan, paracetamol, pseudo-éphedrine	2
> 10 mg	Spiramycine	1

Les traceurs retenus dans la partie résultats et discussion sont respectivement l'**irbesartan** pour l'atelier de granulation et la pelliculeuse et le **candesartan cilexétil** pour le mélangeur octogonal, l'atelier de compression et l'atelier de conditionnement primaire.

#### 1.2.1.2. Choix du traceur microbiologique

Les critères de sélection retenus pour le choix du traceur microbiologique sont les suivants.

- Dénombrement microbien (indice de DGAT + indice de DMLT).
- Présence ou absence des agents antimicrobiens.
- Nettoyabilité.

Etant donnée que les limites d'acceptation pour le dénombrement microbien, sont les mêmes (DGAT = 1000 et DMLT = 100) pour tous les produits fabriqués sur la même ligne (car ils sont destinés à la même voie d'administration (orale)) et aucun produit ne contient des agents antimicrobiens. Le seul critère de sélection qui varie entre les produits est la **nettoyabilité**.

**Les traceurs retenus pour analyse microbiologique sont les mêmes que ceux retenus en analyse physicochimique.**

#### 1.2.2. Etablissement des critères d'acceptation

##### 1.2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique

Les limites d'acceptation "ARL" pour les deux modes de prélèvements (écouvillonnage et eaux de rinçage) et suivant les deux approches (traditionnelle et la nouvelle reposant sur la PDE) sont calculées de la même façon que les limites d'acceptation établies dans le cadre de la validation du nettoyage des autres lignes de fabrication.

### **1.2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique**

Les limites d'acceptation en analyse microbiologique sont fixées en interne par le laboratoire de contrôle qualité en conformité avec les exigences des pharmacopées en vigueur (européenne et américaine) et les guides de bonnes pratiques de fabrication.

## **1.3. Méthodes d'analyse**

### **1.3.1. Méthode d'analyse physicochimique du dosage de candesartan cilexétel :**

Le candesartan cilexétel à l'état de traces est dosé par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), détection spectrophotométrique dans l'ultraviolet. La méthode est mise au point et validée au laboratoire de contrôle qualité.

#### **1.3.1.1. Description de la méthode**

##### **➤ Préparation des solutions**

- **Phase mobile :** Mélanger 570 ml d'acétonitrile, 430 ml d'eau purifiée et 10 ml d'acide acétique, agiter puis filtrer sur un filtre de 0,45 µm de porosité et dégazer la phase mobile ainsi préparée.
- **Diluant :** Mélanger 600 ml d'acétonitrile et 400 ml d'eau purifiée et agiter.
- **Solvant de récupération :** Ethanol absolu.
- **Solution standard à 1.5 µg/ml** (solution correspondant à **100% de l'ARL**) : Dans une fiole de 100 ml, peser 15 mg du candesartan cilexétel standard, dissoudre et compléter au trait de jauge avec l'acétonitrile.

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

##### **➤ Conditions chromatographiques**

Colonne : C<sub>18</sub> (150 mm x 3.9 mm, diamètre des particules = 4 µm) ou équivalente.

Débit : 0.8 ml/minute.

Volume d'injection = 20 µl.

Détection UV : 254 nm.

Température de la colonne : Ambiante

#### **1.3.1.2. Protocole de la validation analytique**

La méthode de dosage du candesartan cilexétel à l'état de traces est validée au niveau du laboratoire de contrôle qualité conformément à la procédure de validation analytique de l'entreprise. Les paramètres de validation étudiés sont ;

- Spécificité.
- Linéarité.
- Fidélité.
- Limites de détection et de quantification.
- Stabilité des solutions.

### A. Spécificité

La spécificité de la méthode analytique vis-à-vis du candesartan cilexétel est démontrée en étudiant l'interférence des éléments suivants :

- Le solvant de dilution.
- Le support de prélèvement : Ecouvillons.
- Le support à prélever : Plaque en inox de même design que celui avec lequel sont fabriqués les équipements de production (inox de qualité pharmaceutique).
- La comparaison est faite par rapport à une solution standard du candesartan cilexétel à 100% de la limite d'acceptation.

L'interférence est réalisée en préparant et en analysant les solutions ci-dessous ;

- **Blanc solvant** : Correspond au diluant.
- **Blanc écouvillon** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de diluant, plonger les têtes de trois (03) écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant 5 minutes et mettre pendant une heure à l'abri de la lumière.
- **Blanc plaque** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer 1ml du diluant, sécher à l'aire libre.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération, suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml du diluant. Agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer pendant une heure à l'abri de la lumière.

- **Solution standard 100%** : Dans une fiole de 100 ml, peser 15 mg du candesartan cilexétel standard, dissoudre et compléter au trait de jauge avec l'acétonitrile. Effectuer une dilution 1/100<sup>ème</sup> dans le diluant.

Ces échantillons sont analysés et observés pour la présence d'un pic chromatographique au même temps de rétention que celui du candesartan cilexétel sur le chromatogramme obtenu à partir de la solution standard.

#### Critères d'acceptation :

Sur les chromatogrammes obtenus à partir du blanc solvant, blanc écouvillon et blanc plaque : **absence** d'un pic au même temps de rétention que celui du candesartan cilexétel sur chromatogramme obtenu à partir de la solution standard 100%.

## B. Linéarité

La linéarité de la réponse du candesartan cilexétel est démontrée en préparant une série des solutions standards de candesartan cilexétel, comprenant six niveaux de concentrations et couvrant un intervalle de 10 % à 160 % de la limite d'acceptation. Ces solutions sont injectées dans le chromatographe (5 fois chacune) et les surfaces des pics obtenues sont enregistrées.

Les niveaux de concentrations des solutions standards du candesartan cilexétel correspondent à 10%, 40%, 70%, 100%, 130% et 160% de la limite d'acceptation.

La droite de régression : Aire du pic en fonction de la concentration du candesartan cilexétel est tracée.

La pente  $a$ , l'ordonnée à l'origine  $b$  de la droite ainsi que le coefficient de corrélation sont calculés et l'équation de la droite de régression est établie.

Equation de la droite de régression :  $Y = a X + b$ . Avec :

Y : Aire de pic du candesartan cilexétel.

X : Concentration du Candesartan cilexétel en  $\mu\text{g/ml}$

R : Coefficient de corrélation (Aires ; Concentrations)

## Critères d'acceptation :

Le coefficient de détermination «  $R^2$  » doit être supérieur ou égal à 0,99.

## C. Répétabilité

L'étude de répétabilité est réalisée en préparant et en analysant 6 fois la solution plaque à 100%.

### – Préparation de la solution plaque 100% :

Dans une fiole de 100 ml, peser 15 mg du candesartan cilexétel standard. Dissoudre dans un volume suffisant d'acétonitrile et compléter au trait de jauge avec le même solvant.

Dans une fiole de 100 ml, introduire 10 ml de cette solution et compléter au trait de jauge avec le diluant.

Sur une plaque en inox d'une surface de 100  $\text{cm}^2$  (10 cm x 10 cm), déposer 1ml de la solution précédente, sécher sur une plaque chauffante. Prélever cette surface à l'aide de deux écouvillons imbibés dans l'éthanol absolu et un troisième non imbibé.

Mettre les têtes des trois écouvillons dans un tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer à l'abri de la lumière durant une heure.

Le taux de recouvrement est calculé pour chacune des six préparations par rapport à une solution standard du candesartan cilexétel à 1,5  $\mu\text{g/ml}$ .

$$\text{Taux de recouvrement} = 100 \frac{\text{Concentration}_{\text{solution plaque retrouvée}}}{\text{Concentration}_{\text{solution standard déposée}}}$$

A partir des résultats obtenus, on calcule la moyenne et l'écart type relatif (RSD en %).

**Critères d'acceptation :** Le RSD des 6 taux de recouvrement doit être inférieur à 5,0%.

#### D. Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)

La LOQ et la LOD sont déterminés à partir de la gamme d'étalonnage du paramètre linéarité, en traçant la droite de régression : Hauteur du pic de candesartan cilexétil en fonction de sa concentration. L'équation de la droite  $y = a x + b$  est défini, avec ;  
y : Hauteur de pic du candesartan cilexétil.

x : Concentration de candesartan cilexétil en  $\mu\text{g/ml}$ .

La limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) de la méthode sont calculées selon les formules données par le guide ICH Q2(R1) ;

$$LOD = \frac{3.3\sigma_b}{a} \quad LOQ = \frac{10\sigma_b}{a}$$

a étant la pente de la droite et  $\sigma_b$  l'erreur de l'ordonnée à l'origine.

#### Critères d'acceptation :

La LOD et la LOQ doivent être en adéquation avec la limite d'acceptation fixée pour la validation du nettoyage (LOQ < ARL exprimée en unité de concentration).

#### E. Stabilité des solutions

Les solutions concernées par cette étude sont :

- Les prélèvements par écouvillonnage, conservés sans extraction.
- Les prélèvements par écouvillonnage, traités par le solvant d'extraction puis conservés.

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur (2-8°C) pendant 07 jours.

#### Préparation des solutions :

- **Solution stock** : (pour la contamination des plaques).

Dans une fiole de 100 ml, peser 15 mg du candesartan cilexétil standard. Dissoudre dans un volume suffisant d'acétonitrile et compléter au trait de jauge avec le même solvant.

Dans une fiole de 100 ml, introduire 10 ml de cette solution et compléter au trait de jauge avec le diluant.

- **Solution plaque 100% sans extraction** : (Ecouvillons non traités par le solvant d'extraction).

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm, déposer 1 ml de la solution stock et sécher sur une plaque chauffante, prélever la surface à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis.

09 répétitions au total de la solution plaque 100% sont réalisées. L'intervalle des analyses est défini comme suit ;

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES

- A t<sub>0</sub> (le jour même de la préparation) : 3 échantillons sont traités par 10 ml du diluant chacun, après agitation au vortex durant 5 minutes et repos pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière, ils sont injectés dans le chromatographe.
  - A t = 3 jours : 03 échantillons sont conservés au réfrigérateur, au 3<sup>ème</sup> jour ils sont retirés et chacun est traité avec 10 ml du diluant, après agitation au vortex durant 5 minutes et repos pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière, ils sont injectés dans le chromatographe.
  - A t = 7 jours : 03 échantillons sont conservés au réfrigérateur, au 7<sup>ème</sup> jour ils sont retirés et chacun est traité avec 10 ml du diluant, après agitation au vortex durant 5 minutes et repos pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière, ils sont injectés dans le chromatographe.
- **Solution plaque 100% avec extraction** : Ecouillons traités avec le solvant d'extraction puis conservés.

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm, déposer 1ml de la solution stock et sécher sur une plaque chauffante, prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouillons imbibés par le solvant de récupération suivi d'un écouillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer à l'abri de la lumière durant une heure.

Au total, 09 répétitions de cette solution plaque sont réalisées. L'intervalle d'analyse est défini comme suit ;

- A t<sub>0</sub> (le jour même de la préparation) : 3 échantillons sont analysés dès leur préparation.
- A t = 3 jours : 03 échantillons sont conservés au réfrigérateur, au 3<sup>ème</sup> jour ils sont retirés, laissés à température ambiante pendant une heure puis analysés.
- A t = 7 jours : 03 échantillons sont conservés au réfrigérateur, au 3<sup>ème</sup> jour ils sont retirés, laissés à température ambiante pendant une heure puis analysés.

Le taux de recouvrement des solutions plaques à un temps t est égal à la **moyenne arithmétique** des 03 répétitions.

La dégradation de la solution est évaluée à t = 3 jours et à t = 7 en calculant le pourcentage de dégradation D<sub>t</sub> suivant la formule ci-dessous ;

$$D_t = \frac{R_0 - R_t}{R_0} \times 100$$

Avec

R<sub>0</sub> : Taux de recouvrement au temps initial (t<sub>0</sub>) en %.

R<sub>t</sub> : Taux de recouvrement à un temps t en %.

D<sub>t</sub> : Dégradation de l'analyte à un temps t en %.

**Critères d'acceptations :**

La dégradation de l'analyte ne doit pas être supérieure à 5%.

### 1.3.2. Méthode d'analyse physicochimique du dosage d'irbesartan

De même façon que le candesartan cilexétel, l'irbesartan à l'état de traces est dosé par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), détection UV. La méthode est mise au point et validée au laboratoire de contrôle qualité.

#### 1.3.2.1. Description de la méthode

##### ➤ Préparation des solutions

- **Phase mobile** : Tampon pH = 3,3 / Acétonitrile 60/40 (Volume / Volume).
- Tampon pH = 3,3 : A 950 ml d'eau purifiée, ajouter 5,5 ml d'acide phosphorique concentré, agiter et ajuster le pH à  $3,3 \pm 0,05$  avec la triéthylamine.
- **Diluant** : Correspond à la phase mobile.
- **Solvant de récupération** : Ethanol absolu.
- **Solution standard à 3,54 µg/ml** (solution correspondant **100% de l'ARL**) : Dans une fiole de 100 ml, peser 35,4 mg d'irbesartan standard, dissoudre et compléter au trait de jauge avec l'acétonitrile.

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

##### ➤ Conditions chromatographiques

Colonne : C<sub>18</sub> (250 mm x 4,6 mm, diamètre des particules = 5 µm) ou équivalente.

Débit : 1 ml/minute.

Volume d'injection = 50 µl.

Détection UV : 220 nm.

Température de la colonne : Ambiante

#### 1.3.2.2. Protocole de validation analytique

La méthode de dosage de l'irbesartan à l'état de traces est validée au niveau du laboratoire de contrôle qualité, conformément à la procédure interne de validation analytique. Les paramètres de validation étudiés sont ;

- Spécificité,
- Linéarité,
- Fidélité,
- Limites de détection et de quantification.
- Stabilité des solutions

##### A. Spécificité

La spécificité de la méthode analytique vis-à-vis de l'irbesartan est démontrée en étudiant l'interférence des éléments suivants :

- Le solvant de dilution.
- Le support de prélèvement : Les écouvillons.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES

- Le support à prélever : Plaque en inox de même design que celui avec lequel sont fabriqués les équipements de production (inox de qualité pharmaceutique).
- La comparaison est faite par rapport à une solution standard de l'irbesartan à 100% de la limite d'acceptation.

L'interférence est étudiée en préparant et en analysant les solutions suivantes ;

- **Blanc solvant** : Correspondant au diluant
- **Blanc écouvillon** : Dans un tube à vis, mettre 10 ml de diluant, plonger 3 têtes d'écouvillons (deux humectés avec le solvant de récupération et le troisième est sec). Agiter au vortex pendant 5 minutes, et mettre à l'abri de la lumière durant une heure.
- **Blanc plaque** : Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer 1ml du diluant, sécher à l'aire libre.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant. Agiter au vortex pendant 5 minutes et mettre à l'abri de la lumière durant une heure.

- **Solution standard 100%** : Dans une fiole de 100 ml, peser 35,4 mg de l'irbesartan standard, dissoudre et compléter au trait de jauge avec l'acétonitrile. Effectuer une dilution 1/100<sup>ème</sup> dans le diluant.

Ces échantillons sont analysés pour observer la présence d'un pic chromatographique au même temps de rétention que celui de l'irbesartan sur le chromatogramme obtenu à partir de la solution standard 100%.

### Critères d'acceptation :

Sur les chromatogrammes obtenus à partir du blanc solvant, blanc écouvillon et blanc plaque : **absence d'un pic** au même temps de rétention de l'irbesartan du chromatogramme obtenu à partir de la solution standard 100%.

### B. Linéarité

La linéarité de la méthode est démontrée en préparant une série de solutions standards de l'irbesartan comprenant six niveaux de concentrations, étalées sur un intervalle de **10 %** à **160 %** de la limite d'acceptation. Ces solutions sont injectées dans le chromatographe (5 fois chacune) et les surfaces des pics obtenues sont enregistrées.

Les six niveaux de concentrations des solutions standards de l'irbesartan correspondent à 10%, 40%, 70%, 100%, 130% et 160% de la limite d'acceptation.

La droite de régression : Aire du pic d'irbesartan en fonction de sa concentration est tracée. La pente a, l'ordonnée à l'origine b de la droite ainsi que le coefficient de corrélation sont calculés et l'équation de la droite de régression est établie.

Equation de la droite de régression :  $Y = a X + b$

Avec :

Y : Aire du pic de l'irbesartan.

X : Concentration de l'irbesartan en  $\mu\text{g/ml}$ .

R : Coefficient de corrélation (Aires ; Concentrations).

**Critères d'acceptation :** Le coefficient de détermination «  $R^2$  » doit être supérieur ou égale à 0,99.

### C. Répétabilité

L'étude de répétabilité est réalisée en préparant et en analysant 6 fois la solution plaque à 100%.

#### Préparation de la solution plaque 100% :

Dans une fiole de 100 ml, peser 35,4 mg d'irbesartan standard. Dissoudre dans un volume suffisant d'acétonitrile et compléter au trait de jauge avec le même solvant.

Dans une fiole de 100 ml, introduire 10 ml de cette solution et compléter au trait de jauge avec le diluant.

Sur une plaque en inox d'une surface de 100  $\text{cm}^2$  (10 cm x 10 cm), déposer 1ml de la solution précédente, sécher sur une plaque chauffante et effectuer un prélèvement à l'aide de deux écouvillons imbibés dans l'éthanol absolu et un troisième sec.

Mettre les têtes des trois écouvillons dans un tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.

Le taux de recouvrement est calculé pour chacune des six préparations par rapport à une solution standard d'irbesartan à 3,54  $\mu\text{g/ml}$ .

$$\text{Taux de recouvrement} = 100 \frac{\text{Concentration}_{\text{solution plaque retrouvée}}}{\text{Concentration}_{\text{solution standard déposée}}}$$

A partir des résultats obtenus, on calcule la moyenne et l'écart type relatif (RSD en %).

**Critères d'acceptation :** Le RSD des 6 taux de recouvrement doit être inférieur à 5,0%.

### D. Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)

La LOQ et la LOD sont déterminés à partir de la gamme d'étalonnage du paramètre linéarité, on trace la droite de régression ; Hauteur du pic d'irbesartan en fonction de sa concentration et on définit l'équation de la droite  $y = a x + b$  Avec :

y : Hauteur du pic de l'irbesartan.

x : Concentration de l'irbesartan en  $\mu\text{g/ml}$

La limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) sont calculées selon les formules suivantes ;

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

a étant la pente de la droite et  $\sigma_b$  est l'erreur de l'ordonnée à l'origine.

**Critères d'acceptation :**

La LOD et la LOQ doivent être en adéquation avec la limite d'acceptation fixée pour la validation du nettoyage (LOQ < ARL exprimée en unité de concentration).

**F. Stabilité des solutions**

Les solutions concernées par cette étude sont :

- Les prélèvements par écouvillonnage, conservés sans extraction.
- Les prélèvements par écouvillonnage, traités par le solvant d'extraction puis conservés.

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur (2-8°C) pendant 07 jours.

**Préparation des solutions :**

- **Solution stock :** (pour la contamination des plaques).

Dans une fiole de 100 ml, peser 35,4 mg d'irbesartan standard. Dissoudre dans un volume suffisant d'acétonitrile et compléter au trait de jauge avec le même solvant.

Dans une fiole de 100 ml, introduire 10 ml de cette solution et compléter au trait de jauge avec le diluant.

- **Solution plaque 100% sans extraction :** Ecouvillons conservés sans traitement par le solvant d'extraction.

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm, déposer 1 ml de la solution stock et sécher sur une plaque chauffante, prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons imbibés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis. Au total 09 répétitions de la solution plaque 100% sont réalisées. L'intervalle des analyses est défini comme suit ;

- A t<sub>0</sub> (le jour même de la préparation) : 3 échantillons sont traités par 10 ml du diluant chacun, après agitation au vortex durant 5 minutes et repos pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière, ils sont injectés dans le chromatographe.
- A t = 3 jours : 03 échantillons sont conservés au réfrigérateur, au 3<sup>ème</sup> jour ils sont retirés et chacun est traité avec 10 ml du diluant, après agitation au vortex durant 5 minutes et repos pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière, ils sont injectés dans le chromatographe.
- A t = 7 jours : 03 échantillons sont conservés au réfrigérateur, au 7<sup>ème</sup> jour ils sont retirés et chacun est traité avec 10 ml du diluant, après agitation au vortex durant 5 minutes et repos pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière, ils sont injectés dans le chromatographe.

➤ **Solution plaque 100% avec extraction** : (Ecouvillons traités et conservés).

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm, déposer 1ml de la solution stock et sécher sur une plaque chauffante, prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter pendant 5 minutes au vortex et laisser reposer pendant une heure à l'abri de la lumière.

09 répétitions de cette solution plaque sont préparées. L'intervalle des analyses est défini comme suit ;

- A t<sub>0</sub> (le jour même de la préparation) : 3 échantillons sont analysés dès leur préparation.
- A t = 3 jours : 03 échantillons sont conservés au réfrigérateur, au 3<sup>ème</sup> jour ils sont retirés, laissés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant une heure puis analysés.
- A t = 7 jours : 03 échantillons sont conservés au réfrigérateur, au 3<sup>ème</sup> jour ils sont retirés, laissés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant une heure puis analysés.

Le taux de recouvrement des solutions plaques à un temps t est la **moyenne arithmétique** des 03 répétitions.

La dégradation de la solution est évaluée à t = 3 jours et à t = 7 en calculant le pourcentage de dégradation D<sub>t</sub> selon la formule ci-dessous ;

$$D_t = \frac{R_0 - R_t}{R_0} \times 100$$

**Avec**

R<sub>0</sub>: Taux de recouvrement au temps initial (t<sub>0</sub>) en %.

R<sub>t</sub>: Taux de recouvrement à un temps t en %.

D<sub>t</sub>: Dégradation de l'analyte à un temps t en %.

**Critères d'acceptations :**

La dégradation de l'analyte ne doit pas être supérieure à 5,0%.

**1.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques**

Les méthodes d'analyse microbiologique utilisées dans la validation du nettoyage de la ligne de fabrication des comprimés sont identiques à celles rencontrées dans le cadre de la validation du nettoyage de la centrale de pesée et des autres lignes de fabrication.

**1.3.3. Méthode de recherche des traces du détergent**

La recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage est faite selon une méthode validée par le fournisseur.

Le détergent utilisé dans le nettoyage de la ligne de fabrication des comprimés contient un **agent tensioactifs** et des agents bactéricides et fongicides. La recherche de traces du détergent se fait par une méthode colorimétrique basée sur le principe de l'extraction par formation de paires d'ions.

**1.4. Détermination des taux de recouvrements pour les méthodes de prélèvement par écouvillonnage.**

**1.4.1. Détermination du taux de recouvrement de candesartan cilexétel :** Le taux de recouvrement de la méthode de prélèvement par écouvillonnage est déterminé en contaminant des plaques en inox par des quantités connues du **candesartan cilexétel** sur trois niveaux de concentrations couvrant la limite d'acceptation. L'étude est répétée au total 03 fois, à raison d'une répétition par jours.

**Préparation des solutions :**

- **Solvant d'extraction :** Diluant
- **Solvant de récupération :** Ethanol absolu.
- **Solution stock :** Dans une fiole de 100 ml, peser 15 mg du candesartan cilexétel standard, Dissoudre dans un volume suffisant d'acétonitrile et compléter au trait de jauge avec le même solvant.
- **Solution mère :** Dans une fiole de 100 ml, mettre 10 ml de la solution stock, compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Gamme des solutions standards**
  - **Blanc solvant :** Correspond au diluant.
  - **Solution standard à 50% de l'ARL :** Dans une fiole de 100 ml, mettre 5 ml de la solution mère, compléter au trait de jauge avec le diluant.
  - **Solution standard à 100% de l'ARL :** Dans une fiole de 100 ml, mettre 10 ml de la solution mère, compléter au trait de jauge avec le diluant.
  - **Solution standard à 150% de l'ARL :** Dans une fiole de 100 ml, mettre 15 ml de la solution mère, compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Gamme des solutions plaques :**
  - **Blanc plaque :**

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer 1 ml de diluant. Sécher sur une plaque chauffante.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.
  - **Solution plaque 50% :**

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer **0,5 ml** de la solution mère, sécher sur une plaque chauffante.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés par le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.

➤ **Solution plaque 100% :**

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer **1 ml** de la solution mère, sécher sur une plaque chauffante.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.

➤ **Solution plaque 150% :**

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer **1,5 ml** de la solution mère, sécher sur une plaque chauffante.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons mouillés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.

**Remarque :** La préparation et l'analyse des solutions plaques 50%,100% et 150% sont répétées trois fois chacune.

**Calcul :**

**Le taux de recouvrement** correspond à la quantité du **candesartan cilexétel** récupérée par les trois écouvillons. Il est calculé pour chaque niveau de concentration à partir des quantités déposées sur les plaques et les quantités retrouvées après extraction:

$$\text{Taux de recouvrement} = 100 \frac{\text{Concentration solution plaque retrouvée}}{\text{Concentration solution standard déposée}}$$

La moyenne et le % RSD pour chaque niveau de concentration sont calculés.

- Si le coefficient de variation (RSD) pour chaque concentration est  $\leq 10\%$  : le taux de recouvrement correspond à la **moyenne arithmétique** des taux de recouvrement des niveaux de concentrations.
- Si le coefficient de variation (RSD) est  $> 10\%$  : le taux de recouvrement le **plus faible** est retenu.

**1.4.2. Détermination du taux de recouvrement d'irbesartan :** La méthodologie suivie pour la détermination du taux de recouvrement de la méthode de prélèvement par écouvillonnage de l'irbesartan est la même que celle appliquée à la détermination du taux de recouvrement du candesartan cilexétel.

**Préparation des solutions :**

- **Solvant d'extraction** : Phase mobile
- **Solvant de récupération** : Ethanol absolu.
- **Solution stock** : Dans une fiole de 100 ml peser 35,4 mg d'irbesartan standard, dissoudre dans un volume suffisant du diluant et compléter au trait de jauge avec le même solvant.
- **Solution mère** : Dans une fiole de 100 ml, mettre 10 ml de la solution stock, compléter au trait de jauge avec le diluant.
- **Gamme des solutions standards**
  - **Blanc solvant** : Correspond au diluant
  - **Solution standard à 50% de l'ARL** : Dans une fiole de 100 ml, mettre 5 ml de la solution mère, compléter au trait de jauge avec le diluant.
  - **Solution standard à 100% de l'ARL** : Dans une fiole de 100 ml, mettre 10 ml de la solution mère, compléter au trait de jauge avec le diluant.
  - **Solution standard à 150% de l'ARL** : Dans une fiole de 100 ml, mettre 15 ml de la solution mère, compléter au trait de jauge avec le diluant.

- **Gamme des solutions plaques :**

➤ **Blanc plaque :**

Sur une plaque en inox de 10cm x 10cm. Déposer 1 ml de diluant. Sécher sur une plaque chauffante.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons humectés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.

➤ **Solution plaque 50 % :**

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer **0,5 ml** de la solution mère, sécher sur une plaque chauffante.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons humectés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.

➤ **Solution plaque 100 % :**

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer **1 ml** de la solution mère, sécher sur une plaque chauffante.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons humectés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.

➤ **Solution plaque 150% :**

Sur une plaque en inox de 10 cm x 10 cm. Déposer **1,5 ml** de la solution mère, sécher sur une plaque chauffante.

Prélever la surface de la plaque à l'aide de deux écouvillons humectés avec le solvant de récupération suivi d'un écouvillon sec. Récupérer les têtes des 03 écouvillons dans le même tube à vis rempli de 10 ml de diluant, agiter au vortex pendant 5 minutes et laisser reposer durant une heure à l'abri de la lumière.

**Remarque :** La préparation et l'analyse des solutions plaques 50%,100% et 150% sont répétées trois fois.

**Calcul :**

**Le taux de recouvrement** correspond à la quantité d'**irbesartan** récupérée par les trois écouvillons. Il est calculé pour chaque niveau de concentration à partir des quantités déposées sur la plaque et les quantités retrouvées après extraction:

$$\text{Taux de recouvrement} = 100 \frac{\text{Concentration solution plaque retrouvée}}{\text{Concentration solution standard déposée}}$$

La moyenne et le % RSD pour chaque niveau de concentration sont calculés.

- Si le coefficient de variation (RSD) pour chaque concentration est  $\leq 10\%$  : le taux de recouvrement correspond à la **moyenne arithmétique** des taux de recouvrement des niveaux de concentrations.
- Si le coefficient de variation (RSD) est  $> 10\%$  : le taux de recouvrement le **plus faible** est retenu.

**1.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage**

**1.5.1. Méthode de nettoyage**

- Le nettoyage des équipements de la ligne de fabrication des formes sèches - comprimés - est réalisé à l'aide d'une solution aqueuse et chaude du détergent soit par circulation ou par trempage pour les parties démontables.
- Le rinçage final se fait à l'aide de l'eau purifiée. Le volume total du rinçage final est fixé pour chaque équipement.

**1.5.2. Plan de prélèvements**

Le choix des points de prélèvement pour les ateliers retenus dans la présente étude, est fait selon la criticité des équipements et l'accessibilité de certaines zones au nettoyage.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**1.5.2.1. Plan de prélèvements - atelier de granulation :** Le produit pire cas est l'irbesartan.

Les points de prélèvement choisis pour la validation du nettoyage de l'atelier de granulation sont décrits dans le tableau CXXVII.

**Tableau CXXVII : Plan de prélèvements de l'atelier de granulation**

Equipements	Points critiques de l'équipement	Prélèvement physicochimique		Prélèvement microbiologique	
		Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage
<b>Granulateur</b>	Couteaux Paroi interne Agitateur Vanne inferieur	√	√	√	√
<b>Chariot</b>	Fond du chariot	NA	√	NA	√
<b>Sécheur</b>	Paroi du sécheur Fond du chariot Sortie	√	√	√	√
<b>Concasseur</b>	Conduit supérieur Paroi du concasseur Couteaux	√	√	√	√
<b>Vibreur</b>	Paroi Sortie	√	√	√	√
<b>Mélangeur</b>	Agitateur Coté latérale	√	√	√	√
<b>Tamiseur</b>	Bassin du tamis Sortie du tamiseur	√	√	√	√
<b>Elévateur mobile (fut)</b>	Coté du fut Sortie du fut	√	√	√	√

**1.5.2.2. Plan de prélèvements - mélangeur octogonal :** Le produit pire cas est le **candesartan cilexétel**.

Les points de prélèvement choisis pour la validation du nettoyage de l'atelier de granulation sont le coté latéral et la sortie du mélangeur.

**1.5.2.3. Plan de prélèvements - atelier de compression :** Le produit pire cas est le **candesartan cilexétel** (sauf le fut et la trémie pour lesquels le produit pire cas est l'irbesartan).

Les points de prélèvement choisis pour la validation du nettoyage de l'atelier de compression sont décrits dans le tableau CXXVIII.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXVIII : Plan de prélèvements de l'atelier de compression**

Equipements	Points critiques de l'équipement	Prélèvement physicochimique		Prélèvement microbiologique	
		Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage
Connecteur de la Trémie	Coté latérale Conduit granulé	√	√	√	√
Distributeur	L'étoile Fond	√	√	√	√
Tourelle	NA	NA	√	NA	√
Passerelle de séparation	NA	NA	√	NA	√
Dépoussiéreur	NA	√	√	√	√
Détecteur de métaux	Conduit en plastique Trappe en inox	√	√	√	√
Poinçons	-Partie active	NA	√	NA	√
Trémie et fut	NA	NA	√	NA	√

**1.5.2.4. Plan de prélèvements - pelliculeuse : Produit pire cas est l'irbesartan.**

Les points de prélèvement choisis pour la validation du nettoyage de la pelliculeuse sont décrits dans le tableau CXXIX.

**Tableau CXXIX : Plan de prélèvements de la pelliculeuse**

Equipements	Points critiques de l'équipement	Prélèvement physicochimique		Prélèvement microbiologique	
		Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage
Tambour	Coté latérale	NA	√	NA	√
Racleurs	NA	NA	√	NA	√

**1.5.2.5. Plan de prélèvements - atelier de conditionnement primaire : Le produit pire cas est le candesartan cilexétel.**

Les points de prélèvement choisis pour la validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire sont décrits dans le tableau CXXX.

**Tableau CXXX : Plan de prélèvements de l'atelier de conditionnement primaire**

Equipements	Points critiques de l'équipement	Prélèvement physicochimique		Prélèvement microbiologique	
		Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage
Trémie	Coté latérale	√	√	√	√
Descente de la trémie	NA	√	√	√	√
Distributeur	NA	NA	√	NA	√
Brosse dédiés Par produit	NA	NA	NA	NA	√
Racleurs	NA	NA	√	NA	√

### 1.5.3. Critères d'acceptation

#### 1.5.3.1. Critères visuels

- **Aspect des équipements** : L'inspection visuelle des équipements après nettoyage ne doit retrouver aucune trace visible du produit à l'œil nu.
- **Aspect des prélèvements** : Les écouvillons et les eaux de rinçage après prélèvements doivent garder leurs aspects initiaux (absence de taches et de particules visibles à l'œil nu, absence de changement d'aspect).

**1.5.3.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique** : Après fabrication des produits pires cas et nettoyage des équipements de la ligne des formes sèches – comprimés- les taux résiduels doivent être respectivement inférieurs à : **8,1 µg/100cm<sup>2</sup>** pour les prélèvements par écouvillonnage et à **0,7 µg/ml** pour les eaux de rinçage.

#### 1.5.3.3. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique

Le dénombrement microbien (DGAT et DMLT) doit répondre aux normes suivantes ;

- Prélèvement par écouvillonnage : DGAT + DMLT < 200 ufc/100 cm<sup>2</sup>.
- Prélèvement par les eaux de rinçage : DGAT + DMLT < 10000 ufc / 100 ml.

Pour la recherche des germes spécifiés : Deux germes sont concernés, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. **Aucune colonie ne doit être retrouvée** dans les prélèvements.

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. Choix du traceur

#### 2.1.1. Choix du traceur en vue de l'analyse physicochimique

##### 2.1.1.1. Approche traditionnelle

La base de données et la cotation des critères pour le choix du traceur physicochimique sont présentées dans les tableaux suivants

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXXI : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Atelier de granulation**

Produits	Principes actifs	Solubilité (eau)	Nettoyabilité	Toxicité (DL50 en mg/Kg)
Biodazole	Métronidazole	Peu soluble	Facile	3000 (rat)
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	Assez soluble	Facile	53 (rat)
Bispiradent /Spiradent	Spiramycine	Peu soluble	Difficile	2900 (souris)
	Métronidazole	Peu soluble		3000 (rat)
Co irbevel	Irbesartan	Pratiquement insoluble	Très difficile	2200 (rat)
	Hydrochlorothiazide	Très peu soluble		650 (souris)
Corect	Acarbose	Très soluble	Facile	24000 (rat)
Dolirhum	Paracétamol	Assez soluble	Facile	177 (rat)
	Pseudophedrine	Facilement soluble		371 (souris)
Glotix	Gliclazide	Pratiquement insoluble	Facile	1750 (rat)
Irbevel	Irbesartan	Pratiquement insoluble	Très difficile	2200 (rat)
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	Très soluble	Difficile	135 (souris)
Neupax	Carbamazepine	Très peu soluble	Difficile	529 (souris)
Nobac	Algénate de sodium	Soluble	Facile	> 5000 (rat)
	Bicarbonate de sodium	Soluble		3360 (souris)
	Carbonate de calcium	Pratiquement insoluble		6450 (rat)
Rivasti	Rivastigmine hydrogene tartrate	Soluble	Facile	13 (rat)
Spira	Spiramycine	Peu soluble	Facile	2900 (souris)
Synosia	Donepezil HCl	Soluble	Facile	32,6 (rat)
Terbinan	Terbinafine	Très peu soluble	Moyenne	2000 (rat)
Xamadol	Paracétamol	Assez soluble	Facile	177 (rat)
	Tramadol	Facilement soluble		228 (rat)

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXXII : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Mélangeur octogonal**

<b>Produits</b>	<b>Principes actifs</b>	<b>Solubilité (eau)</b>	<b>Nettoyabilité</b>	<b>Toxicité (DL50 en mg/Kg)</b>
Aspirine cardio	Aspirine	Peu soluble	Difficile	200 (rat)
Atacand	Candesartan cilexétil	Pratiquement insoluble	Enormément difficile	2000 (rat, souris)
Biodazole	Métronidazole	Peu soluble	Facile	3000 (rat)
Celetasone	Betamethasone	Pratiquement insoluble	Facile	4500 (Souris)
Clopix	Clopidogrel bisulfate	Pratiquement insoluble	Facile	1914 (rat)
Corect	Acarbose	Très soluble	Facile	24000 (rat)
Fenoxam	Piroxicam	Pratiquement insoluble	Moyenne	216 (rat)
Hytacand	Candesartan cilexétil	Pratiquement insoluble	Enormément difficile	2000 (rat, souris)
	Hydrochlorothiazide	Très peu soluble		650 (souris)
Olanzomax	Olanzapine	Pratiquement insoluble	Moyenne	177 (rat)
Neurica	Prégabaline	Soluble	Moyenne	5000 (rat, souris)
Rispal	Risperidone	Pratiquement insoluble	Facile	56,6 (rat)
Tramgesic	Tramadol	Facilement soluble	Moyenne	228 (rat)

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXXIII : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Atelier de compression**

Produits	Principes actifs	Solubilité (eau)	Nettoyabilité	Toxicité (DL50 en mg/Kg)
Aspirine cardio	Aspirine	Peu soluble	Difficile	200 (rat)
Atacand	Candesartan cilexétel	Pratiquement insoluble	Enormément difficile	2000 (rat, souris)
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	Assez soluble	Facile	53 (rat)
Celetasone	Betamethasone	Pratiquement insoluble	Facile	4500 (souris)
Clopix	Clopidogrel bisulfate	Pratiquement insoluble	Facile	1914 (rat)
Co-irbevel	Irbesartan	Pratiquement insoluble	Très difficile	2200 (rat)
	Hydrochlorotiazide	Très peu soluble		650 (souris)
Corect	Acarbose	Très soluble	Facile	24000 (rat)
Glotix	Gliclazide	Pratiquement insoluble	Facile	1750 (rat)
Hytacand	Candesartan cilexétel	Pratiquement insoluble	Enormément difficile	2000 (rat, souris)
	Hydrochlorothiazide	Très peu soluble		650 (souris)
Olanzomax	Olanzapine	Pratiquement insoluble	Moyenne	177 (rat)
Rispal	Risperidone	Pratiquement insoluble	Facile	56,6 (rat)
Synosia	Donepezil HCl	Soluble	Facile	32,6 (rat)
Zolify	Aripiprazole	Pratiquement insoluble	Facile	950 (rat)

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXXIV : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Pelliculeuse**

Produits	Principes actifs	Solubilité (eau)	Nettoyabilité	Toxicité (DL50 en mg/Kg)
Biodazole	Métronidazole	Peu soluble	Facile	3000 (rat)
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	Assez soluble	Facile	53 (rat)
Bispiradent /Spiradent	Spiramycine	Peu soluble	Difficile	2900 (souris)
	Métronidazole	Peu soluble		3000 (rat)
Clopix	Clopidogrel bisulfate	Pratiquement insoluble	Facile	1914 (rat)
Co irbevel	Irbesartan	Pratiquement insoluble	Très difficile	2200 (rat, souris)
	Hydrochlorothiazide	Très peu soluble		650 (souris)
Irbevel	Irbesartan	Pratiquement insoluble	Très difficile	2200 (rat, souris)
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	Très soluble	Difficile	135 (souris)
Rispal	Risperidone	Pratiquement insoluble	Facile	56,6 (rat)
Spira	Spiramycine	Peu soluble	Facile	2900 (souris)
Xamadol	Paracétamol	Assez soluble	Facile	177 (rat)
	Tramadol	Facilement soluble		228 (rat)

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXXV : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – base de données. Atelier de conditionnement primaire**

Produits	Principes actifs	Solubilité (eau)	Nettoyabilité	Toxicité (DL50 en mg/Kg)
Aspirine cardio	Aspirine	Peu soluble	Difficile	200 (rat)
Atacand	Candesartan cilexétel	Pratiquement insoluble	Enormément difficile	2000 (rat, souris)
Biodazole	Métronidazole	Peu soluble	Facile	3000 (rat)
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	Assez soluble	Facile	53 (rat)
Bispiradent /Spiradent	Spiramycine	Peu soluble	Difficile	2900 (souris)
	Métronidazole	Peu soluble		3000 (rat)
Celetasone	Betamethasone	Pratiquement insoluble	Facile	4500 (souris)
Co irbevel	Irbesartan	Pratiquement insoluble	Très difficile	2200 (rat, souris)
	Hydrochlorothiazide	Très peu soluble		650 (souris)
Dromax	Alendronate de sodium	Soluble	Facile	552 (rat)
Fenoxam	Piroxicam	Pratiquement insoluble	Moyenne	216 (rat)
Glotix	Gliclazide	Pratiquement insoluble	Facile	1750 (rat)
Hytacand	Candesartan cilexétel	Pratiquement insoluble	Enormément difficile	2000 (rat, souris)
	Hydrochlorothiazide	Très peu soluble		650 (souris)
Irbevel	Irbesartan	Pratiquement insoluble	Très difficile	2200 (rat, souris)
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	Très soluble	Difficile	135 (souris)
Neurica	Prégabaline	Soluble	Moyenne	5000 (rat)
Neupax	Carbamazepine	Très peu soluble	Difficile	529 (souris)
Rispal	Risperidone	Pratiquement insoluble	Facile	56,6 (rat)
Rivasti	Rivastigmine hydrogene tartrate	Soluble	Facile	13 (rat)
Synosia	Donepezil HCl	Soluble	Facile	32,6 (rat)
Xamadol	Paracetamol	Assez soluble	Facile	177 (rat)
	Tramadol	Facilement soluble		228 (rat)
Zolify	Aripiprazole	Pratiquement insoluble	Facile	950 (rat)

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXXVI : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Atelier de granulation**

Produits	Principes actifs	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité	Score
Biodazole	Métronidazole	5	1	3	15
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	4	1	4	16
Bispiradent /Spiradent	Spiramycine	5	3	3	45
	Métronidazole	5		3	45
Co irbevel	Irbesartan	7	4	3	<b>84</b>
	Hydrochlorothiazide	6		3	72
Corect	Acarbose	1	1	1	1
Dolirhum	Paracétamol	4	1	4	16
	Pseudophedrine	2		4	8
Glotix	Gliclazide	7	1	3	21
Irbevel	Irbesartan	7	4	2	<b>84</b>
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	1	3	4	12
Neupax	Carbamazepine	6	3	3	54
Nobac	Alginate de sodium	3	1	2	6
	Bicarbonate de sodium	3		3	9
	Carbonate de calcium	7		2	14
Rivasti	Rivastigmine hydrogene tartrate	3	1	5	15
Spira	Spiramycine	5	1	3	15
Synosia	Donepezil HCl	3	1	5	15
Terbinan	Terbinafine	6	2	3	36
Xamadol	Paracetamol	4	1	4	16
	Tramadol	2		4	8

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXXVII : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Mélangeur octogonal**

Produits	Principes actifs	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité	Score
Aspirine cardio	Aspirine	5	3	4	60
Atacand	Candesartan cilexétil	7	5	3	105
Biodazole	Métronidazole	5	1	3	15
Celetasone	Betamethasone	7	1	3	21
Clopix	Clopidogrel bisulfate	7	1	3	21
Corect	Acarbose	1	1	1	1
Fenoxam	Piroxicam	7	2	4	56
Hytacand	Candesartan cilexétil	7	5	3	105
	Hydrochlorothiazide	6		3	90
Olanzomax	Olanzapine	7	2	4	56
Neurica	Prégabaline	3	2	3	18
Rispal	Risperidone	7	1	4	28
Tramgesic	Tramadol	2	2	4	16

**Tableau CXXXVIII : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Atelier de compression**

Produit	Molécules actives	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité	Score
Aspirine cardio	Aspirine	5	3	4	60
Atacand	Candesartan cilexétil	7	5	3	105
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	4	1	4	16
Celetasone	Betamethasone	7	1	3	21
Clopix	Clopidogrel bisulfate	7	1	3	21
Co-irbevel	Irbesartan	7	4	3	84
	Hydrochlorotiazide	6		3	72
Corect	Acarbose	1	1	1	1
Glotix	Gliclazide	7	1	3	21
Hytacand	Candesartan cilexétil	7	5	3	105
	Hydrochlorothiazide	6		3	90
Olanzomax	Olanzapine	7	2	4	56
Rispal	Risperidone	7	1	4	28
Synosia	Donepezil HCl	3	1	5	15
Zolify	Aripiprazole	7	1	3	21

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXXXIX : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Pelliculeuse**

Produits	Principes actifs	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité	Score
Biodazole	Métronidazole	5	1	3	15
Biofenac / Biophenac LP	Diclofenac de sodium	4	1	4	16
Bispiradent / Spiradent	Spiramycine	5	3	3	45
	Métronidazole	5		3	45
Clopix	Clopidogrel bisulfate	7	1	3	21
Co-irbevel	Irbesartan	7	4	3	<b>84</b>
	Hydrochlorothiazide	6		3	72
Irbevel	Irbesartan	7	4	3	<b>84</b>
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	1	3	4	12
Rispal	Risperidone	7	1	4	28
Spira	Spiramycine	5	1	2	10
Xamadol	Paracetamol	4	1	4	16
	Tramadol	2		4	8

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXL : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche traditionnelle – Cotation des critères. Atelier de conditionnement primaire**

Produit	Molécules actives	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité	Score
Aspirine cardio	Aspirine	5	3	4	60
Atacand	Candesartan cilexétel	7	5	3	<b>105</b>
Biodazole	Métronidazole	5	1	3	15
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	4	1	4	16
Bispiradent / Spiradent	Spiramycine	5	3	3	45
	Métronidazole	5		3	45
Celetasone	Betamethasone	7	1	3	21
Co-irbevel	Irbesartan	7	4	3	84
	Hydrochlorotiazide	6		2	48
Dromax	Alendronate de sodium	3	1	3	9
Fenoxam	Piroxicam	7	2	4	56
Glotix	Gliclazide	7	1	3	21
Hytacand	Candesartan cilexétel	7	5	3	<b>105</b>
	Hydrochlorothiazide	6		3	90
Irbevel	Irbesartan	7	3	3	63
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	1	3	4	12
Neurica	Prégabaline	3	2	3	18
Neupax	Carbamazepine	6	3	3	54
Rispal	Risperidone	7	1	4	28
Rivasti	Rivastigmine hydrogene tartrate	3	1	5	15
Synosia	Donepezil HCl	3	1	5	15
Xamadol	Paracétamol	4	1	4	16
	Tramadol	2		4	8
Zolify	Aripiprazole	7	1	3	21

**Discussion :**

L'analyse des tableaux CXXXVI, CXXXVII, CXXXVIII, CXXXIX et CXL précédents permet de dégager deux (02) produits pires cas pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés à savoir ;

- Pour les ateliers de granulation et la pelliculeuse, **l'irbesartan** (principe actif des produits Irbevel® et Co Irbevel ®) est défini comme **pire cas**.
- Pour les équipements : mélangeur octogonale, de compression et de conditionnement primaire, le **candesartan cilexétel** (principe actif des produits Atacand® et Hytacand®) est défini comme **pire cas**.

**Note :** Les références consultées pour les valeurs de DL50 des principes actifs de la ligne des formes sèches - comprimés - sont les mêmes que celles consultées pour la validation du nettoyage de la centrale de pesée.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.1.1.2. Nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE**

Les cotations des critères pour le choix des traceurs physicochimiques selon la nouvelle approche basée sur la PDE sont présentées dans les tableaux CXLI, CXLII, CXLIII, CXLIV et CXLV.

**Tableau CXLI : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères.  
Atelier de granulation**

Produits	Principes actifs	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité (PDE)	Score
Biodazole	Métronidazole	5	1	3	15
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	4	1	3	12
Bispiradent /Spiradent	Spiramycine	5	3	1	15
	Métronidazole	5		3	45
Co irbevel	Irbesartan	7	4	2	56
	Hydrochlorothiazide	6		3	72
Corect	Acarbose	1	1	2	2
Dolirhum	Paracétamol	4	1	2	8
	Pseudophedrine	2		2	4
Glotix	Gliclazide	7	1	2	14
Irbevel	Irbesartan	7	4	2	56
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	1	3	3	9
Neupax	Carbamazepine	6	3	2	36
Nobac	Alginate de sodium	3	1	2	6
	Bicarbonate de sodium	3		1	3
	Carbonate de calcium	7		1	7
Rivasti	Rivastigmine hydrogene tartrate	3	1	5	15
Spira	Spiramycine	5	1	1	5
Synosia	Donepezil HCl	3	1	3	9
Terbinan	Terbinafine	6	2	3	36
Xamadol	Paracétamol	4	1	2	8
	Tramadol	2		4	8

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXLII : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères.**

**Mélangeur octogonal**

Produits	Principes actifs	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité (PDE)	Score
Aspirine cardio	Aspirine	5	3	3	45
Atacand	Candesartan cilexétel	7	5	4	140
Biodazole	Métronidazole	5	1	3	15
Celetasone	Betamethasone	7	1	5	35
Clopix	Clopidogrel bisulfate	7	1	3	21
Corect	Acarbose	1	1	2	2
Fenoxam	Piroxicam	7	2	4	56
Hytacand	Candesartan cilexétel	7	5	4	140
	Hydrochlorothiazide	6		3	90
Olanzomax	Olanzapine	7	2	4	56
Neurica	Prégabaline	3	2	3	18
Rispal	Risperidone	7	1	6	42
Tramgesic	Tramadol	2	2	4	16

**Tableau CXLIII : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères.**

**Atelier de compression**

Produit	Molécules actives	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité (PDE)	Score
Aspirine cardio	Aspirine	5	3	3	45
Atacand	Candesartan cilexétel	7	5	4	140
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	4	1	3	12
Celetasone	Betamethasone	7	1	5	35
Clopix	Clopidogrel bisulfate	7	1	3	21
Co-irbevel	Irbesartan	7	4	2	56
	Hydrochlorotiazide	6		3	72
Corect	Acarbose	1	1	2	2
Glottix	Gliclazide	7	1	2	14
Hytacand	Candesartan cilexétel	7	5	3	140
	Hydrochlorothiazide	6		3	90
Olanzomax	Olanzapine	7	2	4	56
Rispal	Risperidone	7	1	6	42
Synosia	Donepezil HCl	3	1	5	15
Zolify	Aripiprazole	7	1	3	21

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXLIV : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des  
équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères.  
Pelliculeuse**

Produits	Principes actifs	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité (PDE)	Score
Biodazole	Métronidazole	5	1	3	15
Biofenac / Biophenac LP	Diclofenac de sodium	4	1	3	12
Bispiradent / Spiradent	Spiramycine	5	3	1	15
	Métronidazole	5		3	45
Clopix	Clopidogrel bisulfate	7	1	3	21
Co-irbevel	Irbesartan	7	4	2	56
	Hydrochlorothiazide	6		3	<b>72</b>
Irbevel	Irbesartan	7	4	3	56
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	1	3	3	12
Rispal	Risperidone	7	1	6	42
Spira	Spiramycine	5	1	1	5
Xamadol	Paracétamol	4	1	2	8
	Tramadol	2		4	8

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXLV : Choix du traceur physicochimique pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés selon l'approche PDE – Cotation des critères.  
Atelier de conditionnement primaire**

Produit	Molécules actives	Solubilité	Nettoyabilité	Toxicité (PDE)	Score
Aspirine cardio	Aspirine	5	3	3	45
Atacand	Candesartan cilexétel	7	5	4	<b>140</b>
Biodazole	Métronidazole	5	1	3	15
Biofenac / Biofenac LP	Diclofenac de sodium	4	1	3	12
Bispiradent / Spiradent	Spiramycine	5	3	1	15
	Métronidazole	5		3	45
Celetasone	Betamethasone	7	1	5	35
Co-irbevel	Irbesartan	7	4	2	56
	Hydrochlorotiazide	6		3	72
Dromax	Alendronate de sodium	3	1	3	9
Fenoxam	Piroxicam	7	2	4	56
Glotix	Gliclazide	7	1	3	21
Hytacand	Candesartan cilexétel	7	5	3	<b>140</b>
	Hydrochlorothiazide	6		3	90
Irbevel	Irbesartan	7	3	2	42
Largactil	Chlorhydrate de chlorpromazine	1	3	3	9
Neurica	Prégabaline	3	2	3	18
Neupax	Carbamazepine	6	3	2	36
Rispal	Risperidone	7	1	6	42
Rivasti	Rivastigmine hydrogene tartrate	3	1	5	15
Synosia	Donepezil HCl	3	1	3	9
Xamadol	Paracétamol	4	1	2	8
	Tramadol	2		4	8
Zolify	Aripiprazole	7	1	3	21

**Discussion :**

L'analyse des tableaux CXLI, CXLII, CXLIII, CXLIV et CXLV précédents permet de dégager deux (02) produits pires cas pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés à savoir ;

- Pour les équipements : mélangeur octogonal, de compression et de conditionnement primaire, le **candesartan cilexétel** (principe actif des produits Atacand® et Hytacand®) est défini comme **pire cas**.
- Pour les ateliers de granulation et la pelliculeuse, l'hydrochlorothiazide (principe actif du produit Co-irbevel®) est défini comme pire cas.

S'agissant d'une association de deux principes actifs et compte tenu de la teneur faible de l'hydrochlorothiazide dans les comprimés de Co-irbevel (12,5) comparée à celle de l'irbesartan (150 mg), il est plus probable de trouver les traces de l'irbesartan que celles de l'hydrochlorothiazide après fabrication du produit pire cas Co-irbevel. Le traceur donc à rechercher en vue de l'analyse physicochimique est **l'irbesartan**.

**Selon les deux approches, le candesartan cilexétel est choisi comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage du mélangeur octogonal et des ateliers de compression et de conditionnement primaire.**  
**Quant aux équipements de granulation et de pelliculage, l'irbesartan est retenu comme traceur physicochimique.**

**2.1.2. Choix du traceur en vue de l'analyse microbiologique**

Comme indiqué dans le titre 1.2.1.2, les traceurs retenus en analyse microbiologique sont les mêmes que ceux définis pour l'analyse physicochimiques à savoir ;

- Le candesartan celixétel pour le mélangeur octogonal, les ateliers de compression et de conditionnement primaire.
- L'irbesartan pour les équipements de granulation et la pelliculeuse.

**2.2. Etablissement des critères d'acceptation**

**2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique**

**2.2.1.1. Approche traditionnelle**

La limite d'acceptation selon l'approche traditionnelle est l'ARL, elle est calculée pour chaque traceur (irbesartan et candesartan celixétel) et pour chaque type de prélèvement selon les étapes suivantes ;

- **Pour le prélèvement par écouvillonnage,**

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{MAR \times L_B \times A_S \times 10^3}{W_S} \text{ en } \mu\text{g/surface prélevée}$$
$$MAR = \frac{T_A \times F_S \times 10^6}{T_B} \text{ en ppm}$$

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

- MAR (Maximum Allowable Residual) : Chiffre la contamination du produit B par un produit A en tenant compte de la voie d'administration (Facteur de sécurité  $F_s$  associé), il est exprimé en partie par million (multiplication par  $10^6$ ). Si  $MAR > 10$ , sa valeur est arrondie à 10.
- $L_B$  : Taille minimale du lot suivant en Kg.
- $T_A$  : Dose journalière minimale du produit précédent (contaminant) A en mg/jour.
- $T_B$  : Dose journalière maximale du produit suivant B (contaminé) en mg/jour.

Les doses journalières  $T_A$  et  $T_B$  sont calculées pour chaque produit en tenant compte du dosage, de la posologie et des pathologies traitées. Les tableaux CXLVI et CXLVII documentent les valeurs de  $T_A$  et  $T_B$  et  $L_B$  des produits de la ligne de fabrication des comprimés.

**Tableau CXLVI : Valeurs de  $T_A$ ,  $T_B$  et  $L_B$  des produits de la ligne de fabrication des comprimés – Atelier de granulation et pelliculeuse**

Produits	Principes actifs	Dose journalière minimale ( $T_A$ mg)	Nombre de prises par jours**	Dose journalière maximale ( $T_B$ mg)	Taille du lot ( $L_B$ en Kg)
Biodazole 500 mg	Métronidazole	500	3	1500	80*
Biofenac 100 mg LP	Diclofenac de sodium	100	1	100	312
Biofenac 25mg	Diclofenac de sodium	25	4	100	80*
Biofenac 50mg	Diclofenac de sodium	50	3	150	240
Biofenac 75mg LP	Diclofenac de sodium	75	2	150	312
Bispiradent 337/250mg	Spiramycine	337	3	1011	190
	Métronidazole	250	3	750	190
Clopix 75mg	Clopidogrel bisulphate	75	3	225	150
Co-irbevel 150/12.5mg	Irbesartan	150	2	300	80
	Hydrochlorothiazide	12,5	2	25	80
Co-irbevel 300/12.5mg	Irbesartan	300	1	300	240
	Hydrochlorothiazide	12,5	1	12,5	240
Co-irbevel 300/25mg	Irbesartan	300	1	300	80
	Hydrochlorothiazide	25	1	25	80
Corect 50 mg	Acarbose	50	4	200	231
Dolirhume 500/30 mg	Paracétamol	500	4	2000	240
	Pseudophedrine	30	3	90	240

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

Glotix 30mg/ 60mg	Gliclazide	30	3	90	80*
	Hydrochlorothiazide	12,5	4	50	217
Irbevel 150mg	Irbesartan	150	2	300	80*
Irbevel 300mg	Irbesartan	300	1	300	240
Largactil 100mg	Chlorohydrate de Chlorpromazine	100	3	300	240
Neurica	Prégabaline				
Nobac	Alginate de sodium	500	2	1000	512
	Carbonate de sodium	160	2	320	512
	Bicarbonate de sodium	267	2	534	512
Rispal 1mg	Risperidone	1	2	2	80*
Rispal 2mg	Risperidone	2	2	4	80*
Rispal 4mg	Risperidone	4	2	8	80*
Rivasti 1,5 mg	Rivastigmine tartrate	1,5	2	3	80*
Spira 1.5 MUI / 3 MUI	Spiramycine	316,6	3	949,8	120
Spiradent 168/125mg	Spiramycine	168	3	504	190
	Métronidazole	125	3	375	190
Synozia 5 mg / 10mg	Donepezil Hcl	5	3	15	92
Terbinan 250 mg	Terbinafine	250	3	750	195
Xamadol 32.5/37.5mg	Paracetamol	325	3	975	360
	Tramadol HCl	37,5	3	112,5	360

\* : taille minimale du lot.

\*\* : Source des données des posologies, le Vidal en line [155].

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXLVII : Valeurs de T<sub>A</sub>, T<sub>B</sub> et L<sub>B</sub> des produits de la ligne de fabrication des comprimés – mélangeur octogonal, ateliers de compression et de conditionnement primaire**

Produits	Principes actifs	Dose journalière minimale (T <sub>A</sub> mg)	Nombre de prises par jours**	Dose journalière maximale (T <sub>B</sub> mg)	Taille du lot (L <sub>B</sub> en Kg)
Aspirine cardio 100 mg	Acide acétylsalicylique	100	3	300	202.5
Atacand 16 mg	Candesartan celixétil	16	2	32	217
Atacand 8 mg	Candesartan celixétil	8	4	32	217
Biodazole 500 mg	Métronidazole	500	3	1500	80*
Biofenac 100 mg LP	Diclofenac de sodium	100	1	100	312
Biofenac 25mg	Diclofenac de sodium	25	4	100	80*
Biofenac 50mg	Diclofenac de sodium	50	3	150	240
Biofenac 75mg LP	Diclofenac de sodium	75	2	150	312
Bispiradent 337/250mg	Spiramycine	337	3	1011	190
	Métronidazole	250	3	750	190
Celetasone 2mg	Betamethasone	2	3	6	80
Clopix 75mg	Clopidogrel bisulphate	75	3	225	150
Co-irbevel 150/12.5mg	Irbesartan	150	2	300	80
	Hydrochlorothiazide	12,5	2	25	80
Co-irbevel 300/12.5mg	Irbesartan	300	1	300	240
	Hydrochlorothiazide	12,5	1	12,5	240
Co-irbevel 300/25mg	Irbesartan	300	1	300	80
	Hydrochlorothiazide	25	1	25	80
Corect 50 mg	Acarbose	50	4	200	231
Dromax 70 mg	Alondronate de sodium	70	1	70	80*
Fenoxam 20 mg	Piroxicam	20	2	40	80*
Glotix 30mg/ 60mg	Gliclazide	30	3	90	80*
Hytacand 16mg/12.5mg	Candesartan celixétil	16	2	32	218.6
	hydrochlorothiazide	12,5	2	25	218,6
Hytacand 8mg/12.5mg	Candesartan celixétil	8	4	32	217
	hydrochlorothiazide	12,5	4	50	217
Irbevel 150mg	Irbesartan	150	2	300	80*

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

Irbevel 300mg	Irbesartan	300	1	300	240
Largactil 100mg	Chlorohydrate de Chlorpromazine	100	3	300	240
Neupax 200 mg	Carbamazepine	200	3	600	180
Neurica	Prégabaline	75	2	150	80*
Olanzomax	Olanzapine	10	2	20	80*
Rispal 1mg	Risperidone	1	2	2	80*
Rispal 2mg	Risperidone	2	2	4	80*
Rispal 4mg	Risperidone	4	2	8	80*
Rivasti 1,5 mg	Rivastigmine tartrate	1,5	2	3	80*
Synozia 5 mg / 10mg	Donepezil Hcl	5	3	15	92
Tamgesic	Tramadol HCl	50	3	150	
Xamadol 32.5/37.5mg	Paracetamol	325	3	975	360
	Tramadol HCl	37,5	3	112,5	360
Zolify 10mg	Aripiprazole	10	2	20	80*
Zolify 20mg	Aripiprazole	20	1	20	80*

\* : taille minimale du lot.

\*\* : Source des données des posologies, le Vidal en line [155].

- $A_s$  : surface prélevée en  $m^2$  (souvent  $A_s = 100 \text{ cm}^2 = 0,01 \text{ m}^2$ ).
- $W_s$  : Surface commune entre le produit A et le produit B en  $m^2$
- $F_s$  : Facteur de sécurité = 0,001 (forme parentérale).

#### Calcul de la valeur de l'ARL

Pour le calcul de l'ARL de la ligne de fabrication des comprimés, l'approche simplifiée est appliquée à savoir ;

- **Pour le traceur irbesartan (atelier de granulation + pelliculeuse) :** La combinaison produit précédent / produit suivant qui donne la valeur du MAR la plus faible est obtenu avec les deux produits Rispal 1 mg / Dolirhume (paracétamol).
  - $T_A = 1 \text{ mg}$  (rispal 1 mg),  $T_B = 2000 \text{ mg}$  (paracétamol dans le produit Dolirhum), la surface totale de contact entre les deux produits :  $W_s = 33,9 \text{ m}^2$
  - La taille minimale du lot suivant (Dolirhum) :  $L_B = 240 \text{ Kg}$

Dans ces conditions on obtient :

$$MAR = \frac{T_A}{T_B} \times F_s \times 10^6 = \frac{1 \times 10^6 \times 10^{-3}}{2000} = 0,5 \text{ ppm}$$

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{0,5 \times 240 \times 0,01 \times 10^3}{33,9} = 35,4 \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES

- **Pour le traceur candesartan celixétil (mélangeur octogonal + atelier de compression + atelier de conditionnement primaire) :** La combinaison produit précédent / produit suivant qui donne la valeur du MAR la plus faible est obtenue avec les deux produits Rispal 1 mg / Biodazole 500 mg.
  - $T_A = 1$  mg (rispal 1 mg),  $T_B = 1500$  mg.
  - La surface totale de contact entre les deux produits :  $W_s = 35,5$  m<sup>2</sup>
  - La taille minimal du lot suivant :  $L_B = 80$  Kg

Dans ces conditions on obtient :

$$MAR = \frac{T_A}{T_B} \times F_S \times 10^6 = \frac{1 \times 10^6 \times 10^{-3}}{1500} = 0,666 \text{ ppm}$$
$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{0,666 \times 80 \times 0,01 \times 10^3}{35,5} = 15 \text{ } \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

Remarque

- Les méthodes de dosage de traces de ces deux principes actifs sont validées au tour de ces limites d'acceptation (15  $\mu\text{g}/100$  cm<sup>2</sup> pour le candesartan celixétil et 35,4  $\mu\text{g}/100$  cm<sup>2</sup> pour l'irbesartan).
- Avec l'introduction de nouveaux produits et de nouveaux équipements à la ligne des formes sèches, les limites des traceurs sont unifiées en prenant en considération la surface totale de ligne qui est de 49,38 m<sup>2</sup>, la dose thérapeutique journalière minimale du Rispal 1 mg, la dose thérapeutique journalière maximale de paracétamol dans le Dolirhum® (2000 mg) et la taille minimale  $L_B$  de 80 Kg. Dans ces conditions **on calcul la plus faible limite d'acceptation**, il s'agit d'une **limite d'acceptation pire cas**.

Les nouvelles valeurs du MAR et d'ARL calculées sont ;

$$MAR = \frac{T_A}{T_B} \times F_S \times 10^6 = \frac{1 \times 10^6 \times 10^{-3}}{2000} = 0,5 \text{ ppm}$$
$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{0,5 \times 80 \times 0,01 \times 10^3}{49,38} = 8,1 \text{ } \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

- **Pour le prélèvement par les eaux de rinçage ;**

$$ARL_{\text{Eaux de rinçage}} = \frac{MAR \times L_B}{V} \text{ en } \mu\text{g}/\text{ml}$$
$$ARL_{\text{Eaux de rinçage}} = \frac{0,5 \times 80}{57} = 0,7 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$$

V = volume total du rinçage des équipements de fabrication des comprimés = 57 litres.

### 2.2.1.2. Approche basée sur le calcul de la PDE

Pour la gamme des produits fabriqués sur la ligne des formes sèches, la substance ayant la PDE la plus faible est la **risperidone** avec une valeur de **0,0013 mg/jour**.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES

Cette valeur est calculée à partir des données issues des études de toxicité à doses répétées (subaigüe), réalisées durant les essais précliniques de développement du médicament.

L'étude de toxicité subaigüe est effectuée chez le rat pendant vingt cinq (25) jours. La plus faible dose n'entraînant aucun effet néfaste (NOAEL) par voie orale est de 0,04 mg/Kg/jour [159].

$$PDE = \frac{VTR \times B_W}{F_1 \times F_2 \times F_3 \times F_4 \times F_5}$$

- NOAEL = 0,04 mg/Kg/jour
- F1 = 5 : Espèce animale est le rat
- F2 = 10 (Valeur prise par convention).
- F3 = 10 : période de courte durée chez un rongeur.
- F4 = 1 : Aucun effet néfaste n'est observé.
- F5 = 3 : Valeur toxicologique de référence (VTR) utilisée est la NOAEL.
- Bw = 50 Kg (poids moyen d'un adulte).

$$PDE_{Risperidone} = \frac{0,04 \times 50}{5 \times 10 \times 10 \times 1 \times 3} = 0,00133 \text{ mg/jour}$$

- **Pour le prélèvement par écouvillonnage ;**

La limite d'acceptation obtenue pour cette valeur de PDE minimale est égale à ;

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = \frac{PDE_A \times L_B \times A_S \times 10^6}{T_B \times W_S} = \frac{0,00133 \times 80 \times 0,01 \times 10^6}{2 \times 49,4}$$

$$ARL_{\text{Ecouvillonnage}} = 10,77 \text{ } \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

- **Pour le prélèvement par les eaux de rinçage ;**

La limite résiduelle exprimée en  $\mu\text{g}/\text{ml}$  des eaux de rinçage est calculée comme suit ;

$$ARL_{\text{Eaux de rinçage}} = \frac{PDE_A \times L_B \times 10^3}{V} = \frac{0,00133 \times 80 \times 1000}{57} = 36 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$$

### 2.2.1.3. Comparaison entre les valeurs obtenues avec les deux approches

La limite d'acceptation obtenue avec l'approche traditionnelle est plus faible que celle obtenue avec la nouvelle approche basée sur la valeur de la PDE et ce, pour les deux modes de prélèvement.

**Il en résulte que, dans le présent travail, et en vue d'établir des critères d'acceptation plus strictes, les limites retenues pour la validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés sont celles calculées à partir de l'approche traditionnelle.**

Le tableau CXLVIII résume les caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et la méthodologie de calcul de la valeur de PDE de la **rispéridone**.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CXLVIII : Caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et méthodologie de calcul de la valeur de PDE de la rispéridone**

Présentation du produit		
Nom commercial	Rispal®	
DCI	Rispéridone	
Forme galénique et dosage	Comprimés 1, 2, 4 mg	
Ligne de fabrication	Formes sèches	
Données Physicochimiques du principe actif		Références Bibliographiques
Nom chimique (IUPAC)	3-[2-[4-(6-Fluoro-1,2-benzisoxazol-3-yl)pipéridin-1-yl]éthyl]-2-méthyl-6,7,8,9-tétrahydro-4H-pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-one	Monographie Rispéridone. Pharmacopée européenne 9 <sup>ème</sup> édition.
Formule chimique brute	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> FN <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	
Numéro de CAS	[106266-06-2]	
Aspect	Poudre blanche ou sensiblement blanche	
Solubilité dans l'eau	Pratiquement insoluble	
Solubilité dans l'alcool	Assez soluble	
Volatilité	Oui	Données internes Biopharm
Nettoyabilité	Moyenne	
Classe thérapeutique : Neuroleptique, antipsychotique.		
Données toxicologiques (toxicité aiguë) du principe actif		
Espèces animales / Voie	Rat (voie orale)	SDS Rispéridone, USP. Version08. Page 4 Révision date 15-09-2015.
DL 50	56,6 mg/Kg	
Données toxicologiques (toxicité à doses répétées) du principe actif		
Espèce animale / Voie	Rat (voie orale)	NDA 20-272 (S-036) : Pharmacology/ Toxicology review and evaluation Risperdal. CDER- FDA, page 51-52. Date de revision 12-06-2006.
Durée d'étude	25 jours	
Effets observés	Aucun effet néfaste	
Valeur toxicologique (NOEL, NOAEL, LOAEL)	NOAEL = 0,04 mg/Kg/jour	
Dangerosité et classement de la substance		
Génotoxicité	Non	SDS Rispéridone, USP. Version08. Page 5 Révision date 15-09-2015.
Reprotoxicité	Oui (augmentation des mort-nés chez les rats à des doses de 2,5 mg)	
Toxicité des organes	Oui (neurotoxique à des expositions prolongées)	
Pouvoir sensibilisant	Non	
Facteurs de sécurité et calcul de la PDE		
F1 : Extrapolation entres les espèces (2 – 12)	F1 = 5 Extrapolation : Rat → Etre humain	
F2 : Variabilité inter individuelle	F2 = 10 (Conventionnellement utilisée pour tenir compte de la différence entre les individus dans la population humaine).	
F3 : Etudes de toxicité aiguë ou chronique (1-10)	F3 = 10 Basé sur des études de toxicité à doses répétées de courte durée chez le rat	
F4 : Toxicité sévère (1-10)	F4 = 1 Aucun effet néfaste n'est observé	
F5 : Valeur toxicologique utilisée (1 – 10)	F5 = 3 Valeur toxicologique utilisée est la NOAEL	
Valeur de la PDE	<b>PDE = 0,00133 mg/ jour = 1,33 µg/jour</b>	

### **2.2.2. Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique**

Les limites d'acceptation pour l'analyse microbiologique sont fixées en interne conformément aux exigences des pharmacopées en vigueur.

#### **2.2.2.1. Contrôle des surfaces par écouvillonnage**

- DGAT + DMLT : Limite = 200 ufc/100 cm<sup>2</sup>.
- *Escherichia coli* : absence de colonies.
- *Pseudomonas aeruginosa* : absence de colonies.

#### **2.2.2.2. Contrôle des eaux de rinçage**

- DGAT + DMLT : Limite = 10000 ufc/100 ml.
- *Escherichia coli* : absence de colonies.
- *Pseudomonas aeruginosa* : absence de colonies.

### **2.3. Méthodes d'analyse**

#### **2.3.1. Méthodes d'analyses physicochimiques**

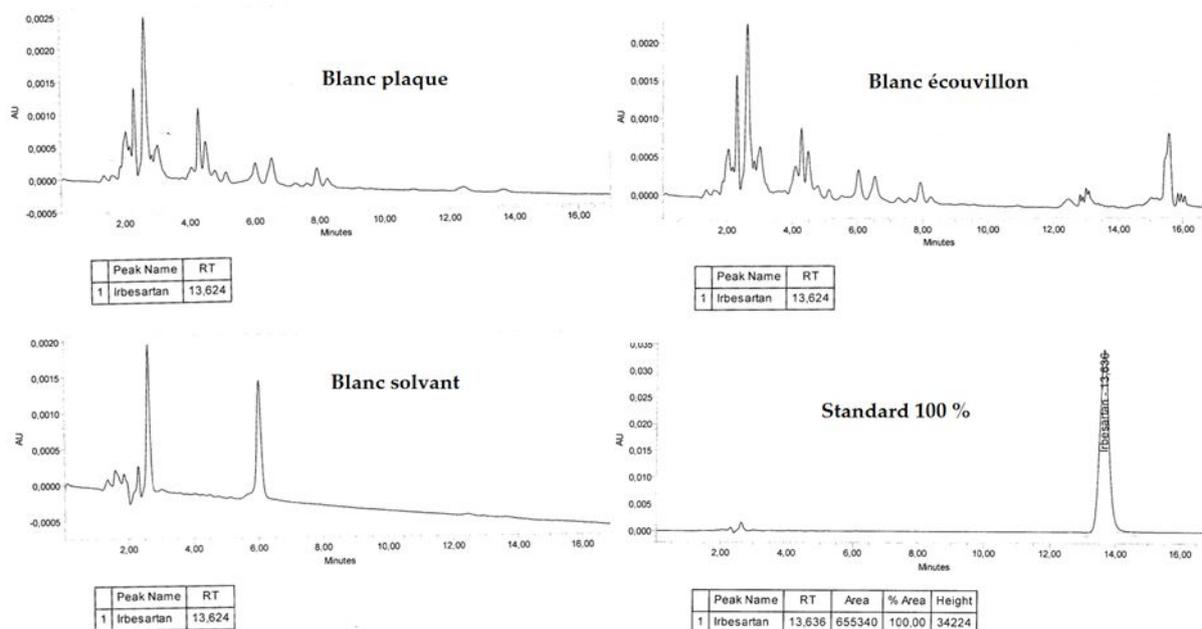
##### **2.3.1.1. Dosage des traces d'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage**

L'irbesartan est le traceur physicochimique de la validation du nettoyage des équipements de granulation et de la pelliculeuse. La méthode de dosage des traces est validée au niveau du laboratoire de contrôle qualité de Biopharm industrie, selon la procédure de validation de l'entreprise. Nous présentons ci-après les résultats de validation des principaux critères à savoir ; la spécificité, la linéarité, la répétabilité et les limites de détection et de quantification ainsi que la stabilité des solutions.

#### **A. Spécificité**

La figure 37 illustre les chromatogrammes obtenus à partir des solutions analysées dans le cadre de l'étude de la spécificité en l'occurrence : le blanc solvant, le blanc écouvillon, le blanc plaque et la solution standard à 3,54 µg/ml.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**



**Figure 37 : Chromatogrammes obtenus pour le paramètre spécificité – Méthode de dosage de l’irbesartan par HPLC**

**Discussion :** La figure 37 ci-dessus montre l’absence du pic d’irbesartan sur les chromatogrammes obtenus à partir des solutions blanc solvant, blanc plaque et blanc écouvillon.

**B. Linéarité :** Les données brutes du paramètre linéarité sont présentées dans le tableau CXLIX.

**Tableau CXLIX : Données de la linéarité de la méthode de dosage de l’irbesartan**

Niveaux de concentrations théoriques en (%)	Concentration réelle en %	Concentration de l’irbesartan en µg/ml	Aire du pic de l’irbesartan (moyenne par concentration)
10%	10,2%	0,357	71117
40%	40,3%	1,427	255280
70%	70,6%	2,498	451209
100%	100,8%	3,568	649416
130%	131,0%	4,638	845073
160%	161,3%	5,709	1051866

**Remarque :**

- La validation analytique est faite une chaine HPLC – Waters

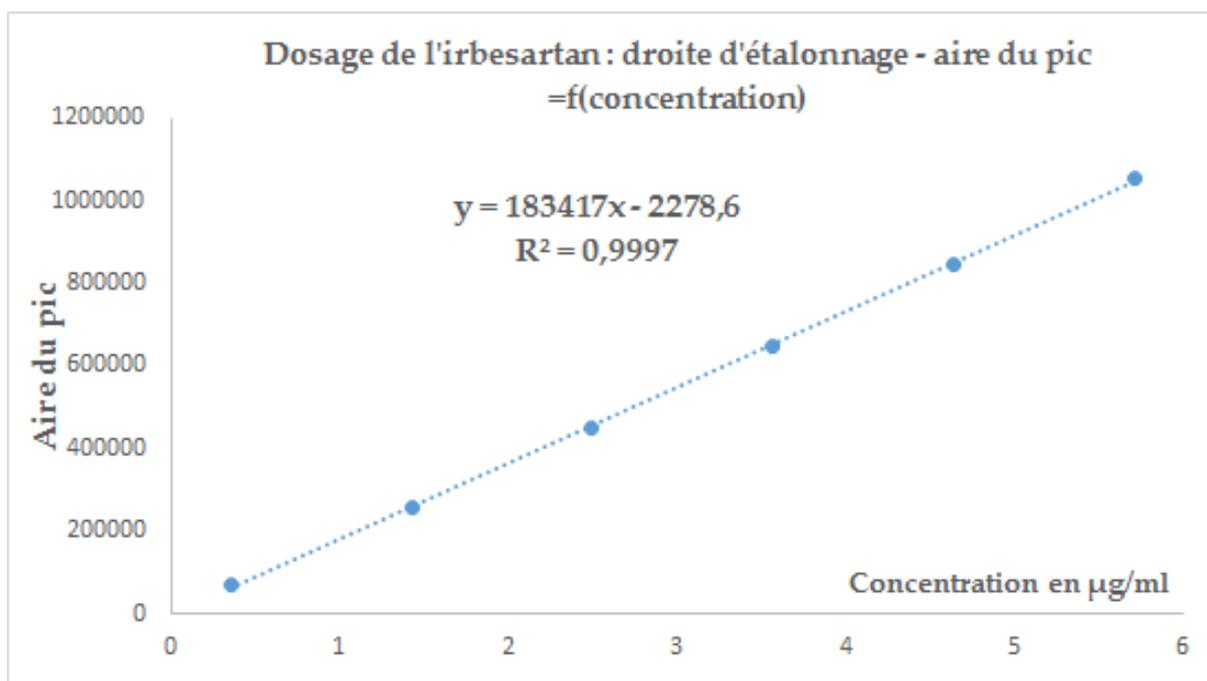


Figure 38 : Linéarité –Droite d'étalonnage - Aire du pic de l'irbesartan  
= f(concentration)

#### Discussion

La méthode présente une **bonne corrélation** ( $R^2 = 0,9997$ ) entre les aires du pic et les concentrations dans l'intervalle de 0,357 µg/ml à 5,709 µg/ml.

#### C. Répétabilité

Tableau CL : Répétabilité de la méthode de dosages de traces d'irbesartan

Solution plaque 100% (répétition)	Quantité d'irbesartan déposée en µg	Quantité d'irbesartan retrouvée en µg	Taux de recouvrement en %
1	3,57	3,07	85,99
2	3,57	3,08	86,27
3	3,57	3,14	87,96
4	3,57	3,10	86,83
5	3,57	3,06	85,71
6	3,57	3,04	85,15
		<b>Moyenne</b>	<b>86,32</b>
		<b>Ecart type</b>	<b>0,89</b>
		<b>RSD % (&lt; 5%)</b>	<b>1,03</b>

#### Discussion

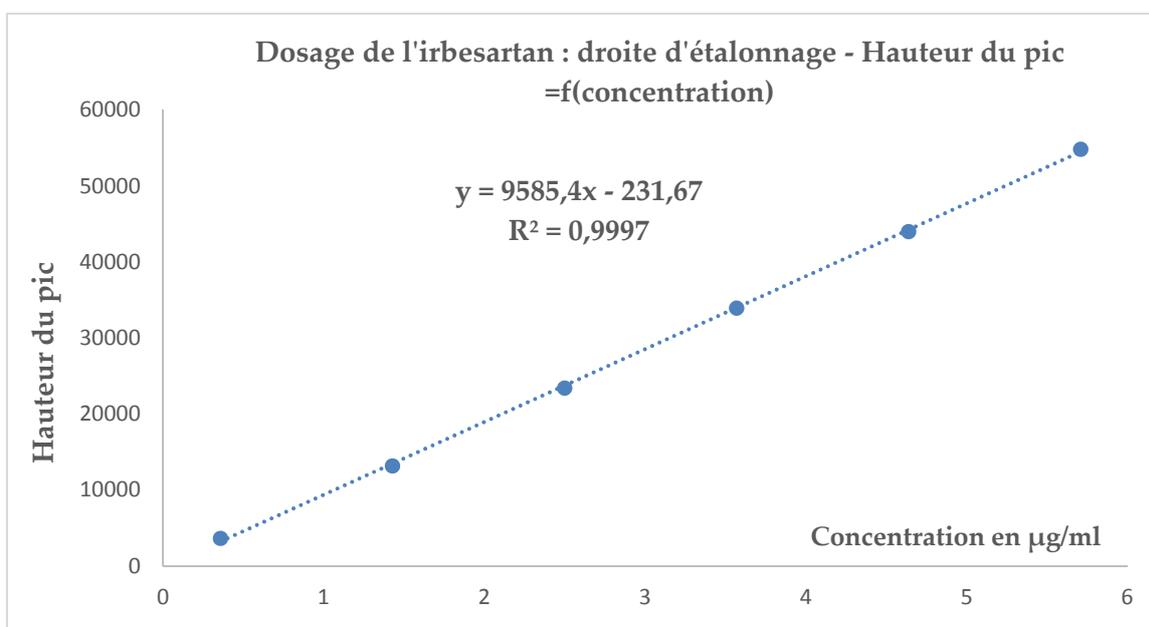
Le coefficient de variation des six (06) répétitions de la préparation et de l'analyse de la solution plaque 100% est de 1,03 %. La norme retenue est de 5%, la méthode de dosage des traces de l'irbesartan est jugée **répétable**.

**D. Limites de détection et de quantification**

Les limites de détection et de quantification sont déterminées à partir de la droite d'étalonnage : hauteur du pic d'irbesartan en fonction de sa concentration, suivant la méthode décrite dans le guide ICH Q2(R1).

**Tableau CLI : Données brutes pour la détermination de la LOD et la LOQ de la méthode de dosage de l'irbesartan.**

Niveaux de concentrations en (%)	Concentration de l'irbesartan en µg/ml	Hauteur du pic de l'irbesartan (moyenne par concentration)
10%	0,357	3637,6
40%	1,427	13174,52
70%	2,498	23418,51
100%	3,568	33943,24
130%	4,638	44011,25
160%	5,709	54849,94



**Figure 39 : Droite d'étalonnage - Hauteur du pic d'irbesartan = f(concentration)**

- L'équation de la droite : Hauteur = f(concentration) :  $H = 9585,4 C - 231,67$ .
- L'erreur de l'ordonnée à l'origine  $\sigma_b$  est calculée par le logiciel origine 6.0 ( $\sigma_b = 124,98$ ).

$$LOD = \frac{3,3 \times \sigma_b}{a} = 0,043 \mu\text{g/ml}$$

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma_b}{a} = 0,129 \mu\text{g/ml}$$

**Discussion**

La limite de quantification de la méthode est inférieure à la limite d'acceptation de la validation du nettoyage de la ligne de fabrication des comprimés (eaux de rinçage = 0,7 µg/ml et écouvillonnage = 8.1 µg/ml, équivalente à 0.81 µg/ml).

La méthode peut donc quantifier les taux résiduels de l'irbesartan dans les différents types de prélèvement au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne de fabrication des comprimés.

#### E. Stabilité des solutions

Les résultats de l'étude de stabilité des solutions sont présentés dans le tableau CLII.

**Tableau CLII : Stabilité des solutions d'irbesartan**

<b>Stabilité des prélèvements par écouvillonnage conservés sans extraction</b>					
	<b>Rendements d'extraction</b>			<b>Dégradation en %</b>	
	<b>T = 0 (R<sub>0</sub>)</b>	<b>T = 3 jours (R<sub>3</sub>)</b>	<b>T = 7 jours (R<sub>7</sub>)</b>	<b>D3 (%)</b>	<b>D7 (%)</b>
<b>Essai 1</b>	96%	95%	81%	1%	16%
<b>Essai 2</b>	93%	98%	81%	5%	13%
<b>Essai 3</b>	94%	94%	87%	0%	7%
<b>Moyenne</b>	94%	96%	83%	2%	12%
<b>Stabilité des prélèvements par écouvillonnage conservés après extraction</b>					
	<b>Rendements d'extraction</b>			<b>Dégradation en %</b>	
	<b>T = 0 (R<sub>0</sub>)</b>	<b>T = 3 jours (R<sub>3</sub>)</b>	<b>T = 7 jours (R<sub>7</sub>)</b>	<b>D3 (%)</b>	<b>D7 (%)</b>
<b>Essai 1</b>	92%	95%	86%	3%	7%
<b>Essai 2</b>	90%	98%	92%	7%	2%
<b>Essai 3</b>	97%	96%	86%	1%	11%
<b>Moyenne</b>	93%	96%	88%	4%	7%

#### Discussion

La durée maximale de stabilité de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage avec ou sans extraction est de trois (03) jours.

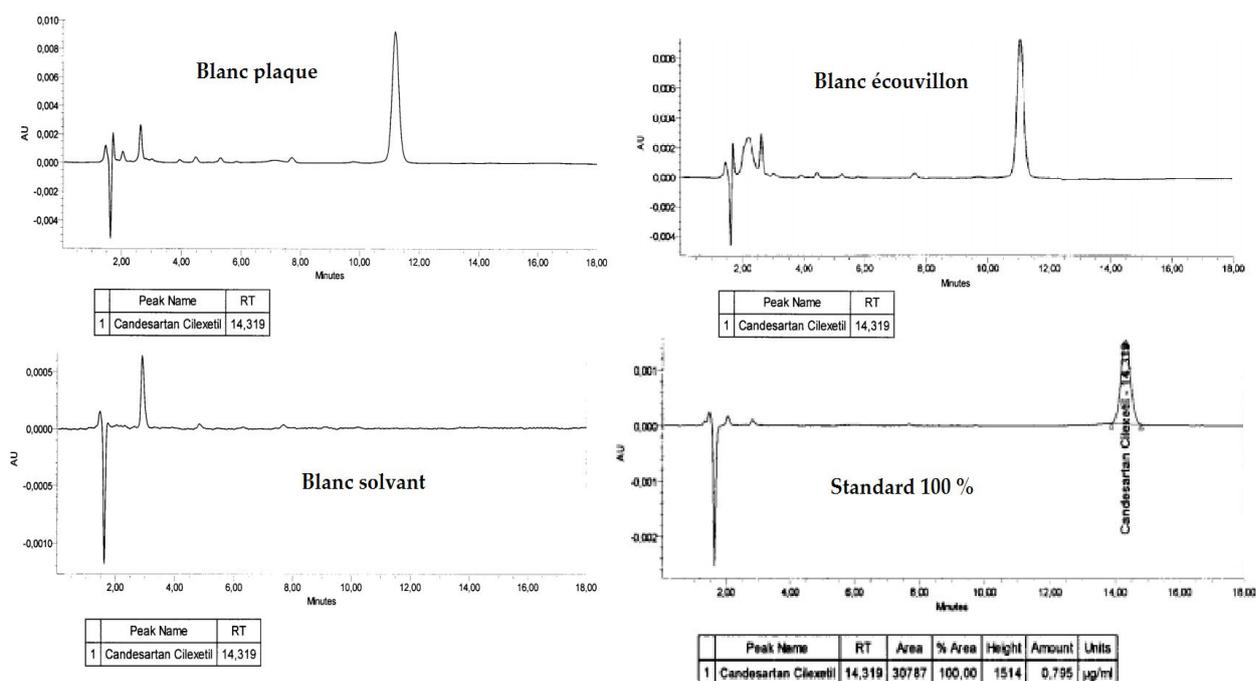
#### 2.3.1.2. Dosage des traces du candesartan celixétel dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.

Le candesartan celixétel est le traceur physicochimique de la validation du nettoyage du mélangeur octogonal, des équipements de compression et de conditionnement primaire faisant objet de la présente étude. La méthode de dosage de traces est validée au niveau du laboratoire de contrôle qualité de Biopharm industrie, selon la procédure de validation de l'entreprise. Nous présentons dans ce qui suit les résultats de validation des principaux critères à savoir ; la spécificité, la linéarité, la répétabilité et les limites de détection et de quantification et la stabilité des solutions.

#### A. Spécificité

La figure 40 illustre les chromatogrammes obtenus à partir des solutions analysées dans le cadre de l'étude de la spécificité à savoir : le blanc solvant, le blanc écouvillon, le blanc plaque et la solution standard à 1,5 µg/ml.

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES



**Figure 40 : Chromatogrammes obtenus pour le paramètre spécificité – Méthode de dosage du candesartan cilexétel par HPLC**

**Discussion :** La figure 40 ci-dessus montre l'absence d'un pic de candesartan cilexétel sur les chromatogrammes obtenus à partir des solutions blanc solvant, blanc plaque et blanc écouvillon.

**B. Linéarité :** Les données brutes du paramètre linéarité sont présentées dans le tableau CLIII.

**Tableau CLIII : Données de la linéarité de la méthode de dosage du candesartan cilexétel**

Niveaux de concentrations théoriques en (%)	Concentration réelle en %	Concentration du candesartan en µg/ml	Aire du pic du candesartan cilexétel (moyenne)
10%	10,1%	0,152	5715
40%	40,5%	0,608	23547
70%	70,9%	1,064	41135
100%	101,3%	1,520	59474
130%	131,7%	1,976	77853
160%	162,2%	2,432	96542

**Remarque :**

- La validation analytique est faite une chaîne HPLC – Waters

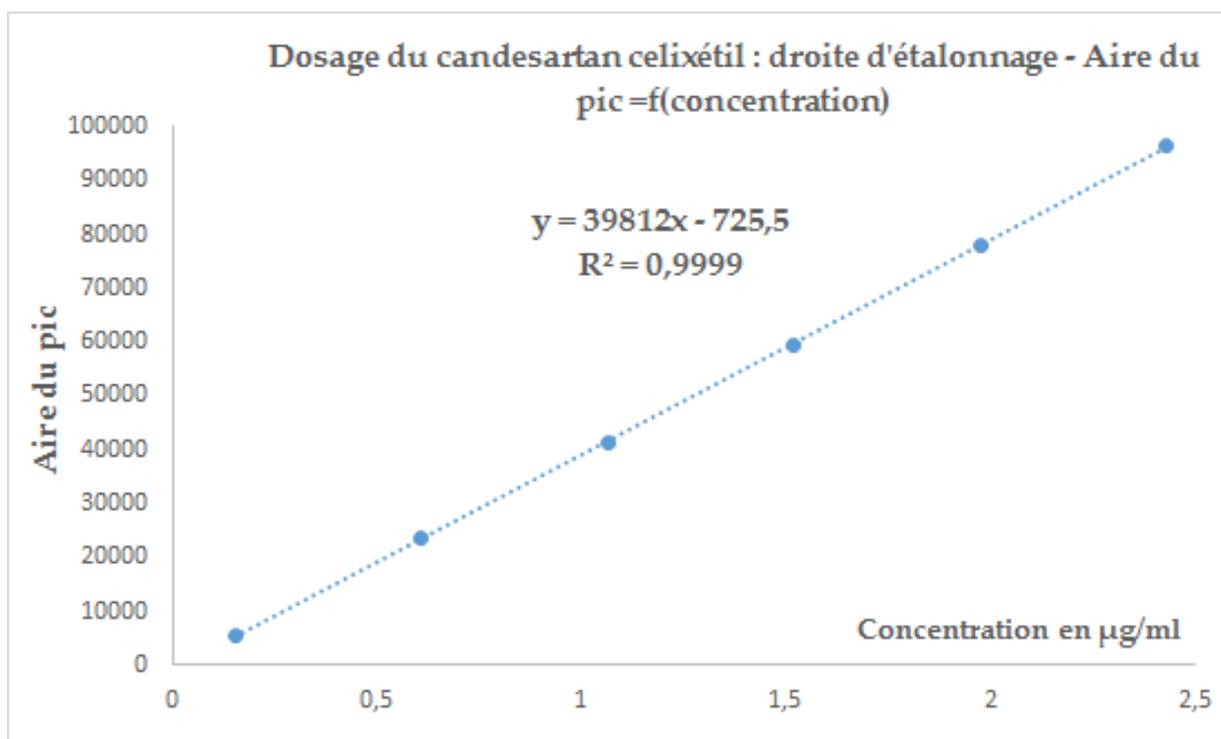


Figure 41 : Linéarité –Droite d'étalonnage - Aire du pic du candesartan celixetil = f(concentration)

#### Discussion

La méthode présente une **bonne corrélation** ( $R^2 = 0,9999$ ) entre les aires du pic de candesartan celixetil et les concentrations dans l'intervalle de **0,152 µg/ml à 2,432 µg/ml**.

#### C. Répétabilité

Tableau CLIV : Répétabilité de la méthode de dosages de traces du candesartan celixetil

Solution plaque 100% (répétition)	Quantité du candesartan celixetil déposée en µg	Quantité du candesartan celixetil retrouvée en µg	Taux de recouvrement en %
1	1,590	1,487	93,52
2	1,590	1,399	87,99
3	1,590	1,404	88,30
4	1,590	1,369	86,10
5	1,590	1,453	91,38
6	1,590	1,418	89,18
		<b>Moyenne</b>	<b>89,41</b>
		<b>Ecart type</b>	<b>2,65</b>
		<b>RSD % (&lt; 5%)</b>	<b>2,96</b>

#### Discussion

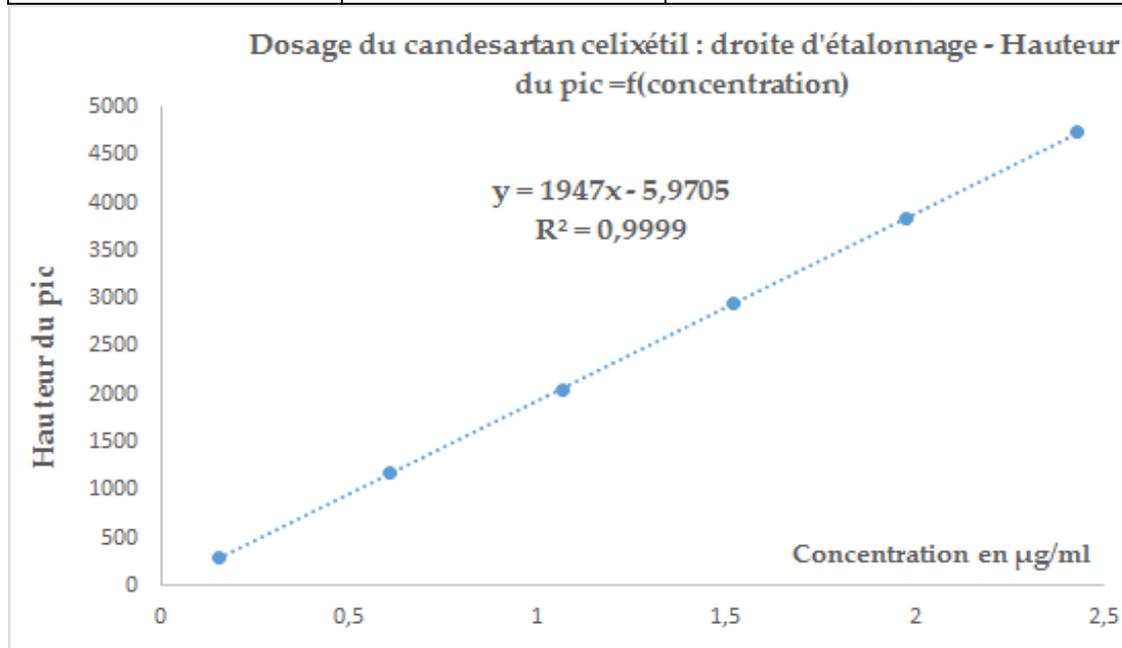
Le coefficient de variation des six (06) répétitions de la préparation et de l'analyse de la solution plaque 100% est de 2,96 %. La norme retenue est de 5%, la méthode de dosage des traces du candesartan celixetil est jugée **répétable**.

**D. Limite de détection et de quantification**

Les limites de détection et de quantification sont déterminées à partir de la droite d'étalonnage : Hauteur du pic de candesartan celixétel en fonction de la concentration suivant la méthode décrite dans le guide ICH Q2(R1).

**Tableau CLV : Données brutes pour la détermination de la LOD et de la LOQ de la méthode de dosage du candesartan celixétel**

Niveaux de concentrations théoriques en (%)	Concentration du candesartan celixétel en µg/ml	Hauteur du pic de candesartan celixétel (moyenne par concentration)
10%	0,152	297,6
40%	0,608	1180,7
700%	1,064	2052,5
100%	1,520	2947,9
130%	1,976	3842,7
160%	2,432	4736,3



**Figure 42 : Droite d'étalonnage - Hauteur du pic du candesartan = f(concentration)**

- Equation de la droite : Hauteur = f(concentration) :  $H = 1947 C - 5,9705$ , l'erreur de l'ordonnée à l'origine  $\sigma_b$  est calculée par le logiciel origine 6.0 ( $\sigma_b = 5,615$ ).

$$LOD = \frac{3,3 \times \sigma_b}{a} = 0,0095 \mu\text{g/ml}$$

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma_b}{a} = 0,0288 \mu\text{g/ml}$$

**Discussion**

La limite de quantification de la méthode est inférieure à la limite d'acceptation de la validation du nettoyage de la ligne de fabrication des comprimés (eaux de rinçage = 0,7 µg/ml et écouvillonnage = 8.1 µg/ml équivalente à 0.81 µg/ml).

La méthode peut donc quantifier les taux résiduels du candesartan celixétel dans les différents types de prélèvement au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne de fabrication des comprimés.

#### E. Stabilité des solutions

Les résultats de l'étude de la stabilité des solutions sont présentés dans le tableau CLVI.

**Tableau CLVI : Stabilité des solutions du candesartan celixétel**

<b>Stabilité des prélèvements par écouvillonnage conservés sans extraction</b>					
	<b>Rendements d'extraction</b>			<b>Dégradation en %</b>	
	<b>T = 0 (R<sub>0</sub>)</b>	<b>T = 3 jours (R<sub>3</sub>)</b>	<b>T = 7 jours (R<sub>7</sub>)</b>	<b>D3 (%)</b>	<b>D7 (%)</b>
<b>Essai 1</b>	86%	86%	92%	0,0%	7,0%
<b>Essai 2</b>	86%	85%	93%	1,2%	8,1%
<b>Essai 3</b>	86%	90%	96%	4,7%	11,6%
<b>Moyenne</b>	86%	87%	94%	2,0%	8,9%
<b>Stabilité des prélèvements par écouvillonnage conservés après extraction</b>					
	<b>Rendements d'extraction</b>			<b>Dégradation en %</b>	
	<b>T = 0 (R<sub>0</sub>)</b>	<b>T = 3 jours (R<sub>3</sub>)</b>	<b>T = 7 jours (R<sub>7</sub>)</b>	<b>D3 (%)</b>	<b>D7 (%)</b>
<b>Essai 1</b>	89%	88%	88%	1,1%	1,1%
<b>Essai 2</b>	87%	89%	90%	2,3%	3,4%
<b>Essai 3</b>	89%	90%	90%	1,1%	1,1%
<b>Moyenne</b>	88%	89%	89%	1,5%	1,9%

#### Discussion

La durée maximale de stabilité du candesartan celixétel dans les prélèvements par écouvillonnage avec extraction est de sept (07) jours et sans extraction est de trois (03) jours.

#### 2.3.2. Méthodes d'analyses microbiologiques

Les méthodes d'analyse microbiologique (dénombrement microbien et recherche des germes spécifiés) sont communes pour les validations du nettoyage des équipements de fabrication et de la centrale de pesée et des autres lignes.

#### 2.4. Validation des méthodes de prélèvement par écouvillonnage

Au même titre que la validation des méthodes analytiques, les méthodes de prélèvement des deux (02) traceurs ont été validées sur 3 niveaux de concentrations (50%, 100% et 150%) de la limite d'acceptation de chaque traceur. Le taux de recouvrement moyen est 89,0% pour le prélèvement du **candesartan celixétel** et de 88,0% pour le prélèvement de **l'irbesartan**. Les résultats de la détermination des rendements d'extraction et des taux de recouvrement sont présentés dans le tableau CLVII.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CLVII : Détermination des taux de recouvrement des méthodes de prélèvement par écouvillonnage du candesartan celixétel et d'irbesartan – validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés**

Validation du prélèvement de <u>candesartan celixétel</u> / contamination des plaques			Validation du prélèvement de <u>l'irbesartan</u> / contamination des plaques		
Concentration en %	Taux de recouvrement en %		Concentration en %	Taux de recouvrement en %	
	Rendements obtenus			Rendements obtenus	
50%	Jour 1	89,7	50%	Jour 1	85,3
	Jour 2	96,3		Jour 2	80,3
	Jour 3	86,0		Jour 3	99,7
	Moyenne	90,7		Moyenne	88,4
	Ecart type	5,2		Ecart type	10,1
	% RSD	5,8		% RSD	11,4
100%	Jour 1	88,3	100%	Jour 1	88,3
	Jour 2	87,3		Jour 2	81,0
	Jour 3	87,3		Jour 3	92,7
	Moyenne	87,6		Moyenne	87,3
	Ecart type	0,6		Ecart type	5,9
	% RSD	0,7		% RSD	6,8
150%	Jour 1	89,7	150%	Jour 1	88,0
	Jour 2	88,3		Jour 2	81,0
	Jour 3	88,3		Jour 3	95,3
	Moyenne	88,8		Moyenne	88,1
	Ecart type	0,8		Ecart type	7,2
	% RSD	0,9		% RSD	8,1
<b>Moyenne totale</b>		<b>89,0 %</b>	<b>Moyenne totale</b>		<b>88,0%</b>
<b>% RSD total</b>		<b>1,7%</b>	<b>% RSD total</b>		<b>0,6%</b>

**2.5. Reproductibilité du procédé de nettoyage des équipements de fabrication des formes sèches - comprimés -**

Les équipements de la ligne de fabrication des formes sèches - comprimés - sont nettoyés après fabrication des produits pires cas définis précédemment et ce, à **3 reprises**.

Les prélèvements en vue des analyses physicochimiques et microbiologiques ont été réalisés selon le plan de prélèvements retenu et la recherche des traces d'irbesartan et du candesartan celixétel ainsi que le dénombrement des microorganismes dans les différents types de prélèvements ont été effectuées. Les résultats obtenus ont été comparés aux limites d'acceptation.

**Les résultats de validation sont présentés pour chaque atelier de fabrication.**

## PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES

### 2.5.1. Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de granulation.

#### 2.5.1.1. Inspection visuelle des équipements

Après nettoyage des équipements de granulation, une inspection visuelle des équipements notamment les endroits difficilement accessibles a été effectuée pour vérifier l'absence des résidus visibles du produit.

Les résultats sont présentés dans le tableau CLVIII pour les 3 jours de validation.

**Tableau CLVIII : Résultats de l'inspection visuelle des équipements de granulation. Jours 1, 2 et 3**

jours	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
Jours 1, 2 et 3	Granulateur	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Chariot	Non		Conforme
	Sécheur	Non		Conforme
	Concasseur	Non		Conforme
	Vibreux	Non		Conforme
	Mélangeur	Non		Conforme
	Tamiseur	Non		Conforme
	Elévateur mobile (fut)	Non		Conforme

#### 2.5.1.2. Inspection visuelle des prélèvements

Les écouillons et les eaux de rinçages après prélèvement sont vérifiés pour absence des taches ou des particules étrangères.

Les résultats sont présentés dans les tableaux CLIX et CLX.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CLIX : Résultats de l'inspection visuelle des écouvillons après prélèvement des équipements de granulation. Jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
Jours 1, 2 et 3	Granulateur - Couteaux-	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Granulateur – Parois	Non		Conforme
	Granulateur - Agitateur-	Non		Conforme
	Granulateur - Vanne inferieure-	Non		Conforme
	Chariot (fond du chariot)	Non		Conforme
	Sécheur – Parois	Non		Conforme
	Sécheur - Fond	Non		Conforme
	Sécheur – Sortie	Non		Conforme
	Concasseur - Conduite supérieure	Non		Conforme
	Concasseur - Parois	Non		Conforme
	Concasseur - Couteaux-	Non		Conforme
	Vibreux - Parois	Non		Conforme
	Vibreux – sortie	Non		Conforme
	Mélangeur – Agitateur	Non		Conforme
	Mélangeur - Coté	Non		Conforme
	Tamiseur – Bassin	Non		Conforme
	Tamiseur – Sortie	Non		Conforme
	Elévateur mobile (fut)-Coté-	Non		Conforme
Elévateur mobile (fut)-Sortie-	Non	Conforme		

**Tableau CLX : Résultats de l'inspection visuelle des eaux de rinçage après prélèvement des équipements de granulation. Jour 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
Jours 1, 2 et 3	Granulateur	Non	Limpidité des eaux de rinçage et absence de particules étrangères.	Conforme
	Sécheur	Non		Conforme
	Concasseur	Non		Conforme
	Vibreux	Non		Conforme
	Mélangeur	Non		Conforme
	Elévateur mobile	Non		Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.5.1.3. Analyse physicochimique : Dosage des traces de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage**

- **Préparation de la gamme d'étalonnage** : Une gamme d'étalonnage comprenant trois niveaux de concentrations a été préparée. Une droite d'étalonnage est tracée pour quantifier l'irbesartan dans les prélèvements.
- **Etablissement des droites d'étalonnage**

La figure 43 présente les droites d'étalonnage obtenues pendant les 3 jours de validation du nettoyage.

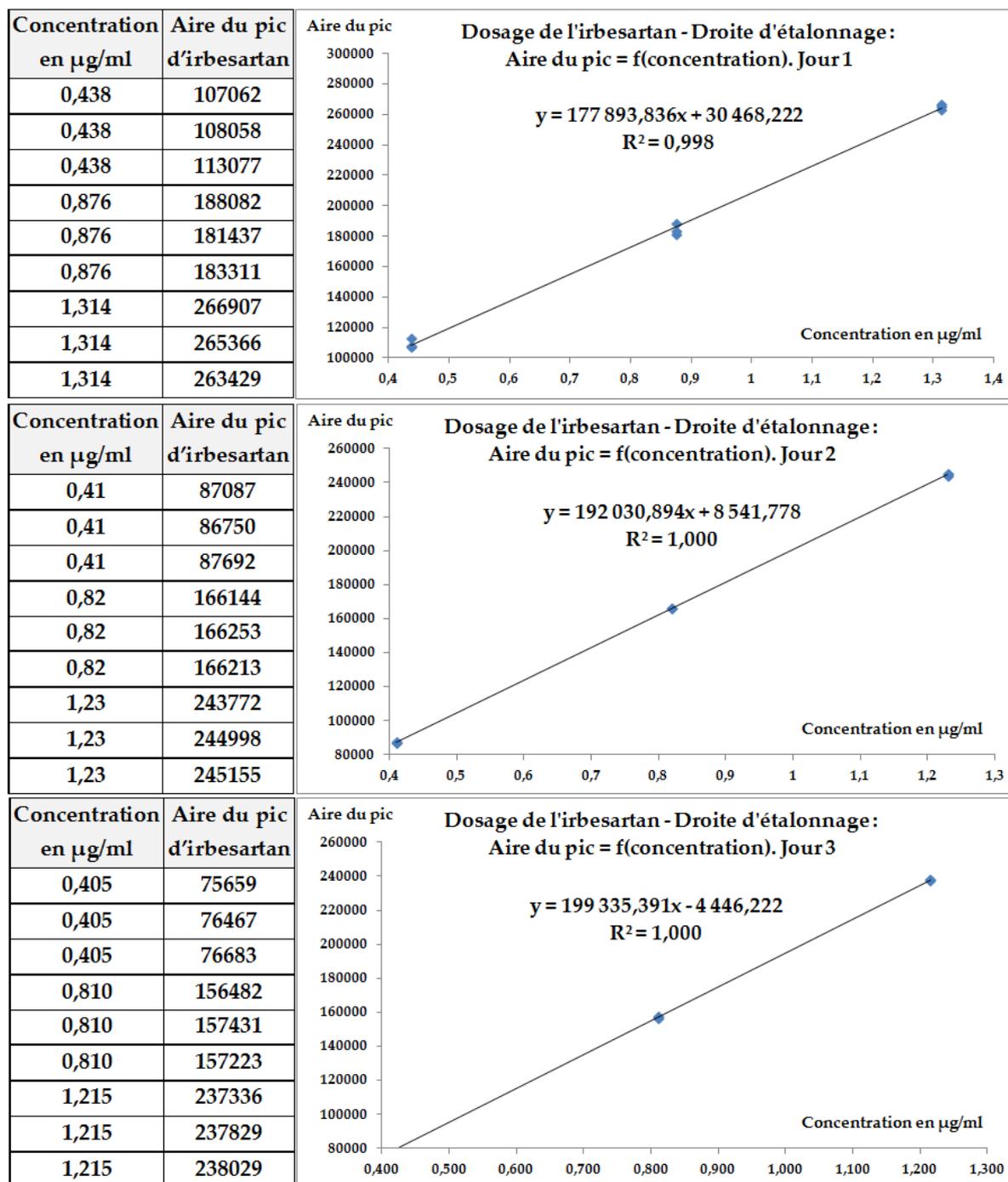


Figure 43 : Droite d'étalonnage – Aire du pic d'irbesartan = f(concentration), jours 1,2 et 3

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**A. Dosage de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage**

Les prélèvements par écouvillonnage sont repris à l'intérieur des tubes à vis par 10 ml du solvant d'extraction. Les solutions ainsi obtenues sont injectées dans les chromatographes. Les concentrations en irbesartan sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage en tenant compte du taux de recouvrement de 88,0%.

La quantité résiduelle de l'irbesartan par unité de surface au niveau des points de prélèvement est donnée par les formules suivantes :

**Jour 1 :**

$$\text{Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} - 30468,222)}{0,88 \times 177893,836} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

**Jour 2 :**

$$\text{Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} - 8541,778)}{0,88 \times 192030,894} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

**Jour 3 :**

$$\text{Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} + 4446,222)}{0,88 \times 199335,391} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

Avec :  $A_{ech}$  est la surface du pic d'irbesartan dans la solution échantillon.

Les résultats obtenus pour les trois (03) jours de validation sont présentés dans le tableau CLXI.

**Tableau CLXI : Résultats de la validation du nettoyage des équipements de granulation. Dosage des traces d'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage – Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	$A_{ech}$	Quantité résiduelle en $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$	Norme	Statut du nettoyage
Jour 1	Granulateur - Couteaux-	10196	< LOD	8,1 $\mu\text{g} / 100 \text{ cm}^2$	Conforme
	Granulateur – Parois	6277	< LOD		Conforme
	Granulateur - Agitateur-	3325	< LOD		Conforme
	Granulateur - Vanne inferieure-	9257	< LOD		Conforme
	Sécheur – Parois	3967	< LOD		Conforme
	Sécheur - Fond	6904	< LOD		Conforme
	Sécheur – Sortie	ND	< LOD		Conforme
	Concasseur - Conduite supérieure	5212	< LOD		Conforme
	Concasseur - Parois	3085	< LOD		Conforme
	Concasseur - Couteaux-	7321	< LOD		Conforme
	Vibreux - Parois	8055	< LOD		Conforme
	Vibreux – sortie	8184	< LOD		Conforme
	Mélangeur – Agitateur	ND	< LOD		Conforme
	Mélangeur - Coté	3889	< LOD		Conforme
	Elévateur mobile (fut)-Coté-	8063	< LOD		Conforme
	Elévateur mobile (fut)-Sortie-	6134	< LOD		Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES  
EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

	Chariot	11072	< LOD		Conforme
	Flexible d'alimentation de poudres	6812	< LOD		Conforme
	Tamiseur – Bassin	8454	< LOD		Conforme
	Tamiseur – Sortie	ND	< LOD		Conforme
Jour 2	Granulateur - Couteaux-	10196	0,1	< 8,1 µg / 100 cm <sup>2</sup>	Conforme
	Granulateur – Parois	6155	< LOD		Conforme
	Granulateur - Agitateur-	9292	< LOD		Conforme
	Granulateur - Vanne inferieure-	24215	0,9		Conforme
	Sécheur – Parois	NA	NA		Conforme
	Sécheur - Fond	NA	NA		Conforme
	Sécheur – Sortie	NA	NA		Conforme
	Concasseur - Conduite supérieure	5123	< LOD		Conforme
	Concasseur - Parois	12186	0,2		Conforme
	Concasseur - Couteaux-	11886	0,2		Conforme
	Vibreur - Parois	21078	0,7		Conforme
	Vibreur – sortie	144264	8,0		Conforme
	Mélangeur – Agitateur	49288	2,4		Conforme
	Mélangeur - Coté	15619	0,4		Conforme
	Tamiseur – Bassin	6745	< LOD		Conforme
	Tamiseur – Sortie	ND	< LOD		Conforme
Jour 3	Granulateur - Couteaux-	8801	0,76	< 8,1 µg / 100 cm <sup>2</sup>	Conforme
	Granulateur – Parois	16585	1,20		Conforme
	Granulateur - Agitateur-	8643	0,75		Conforme
	Granulateur - Vanne inferieure-	29071	1,91		Conforme
	Sécheur – Parois	19077	1,34		Conforme
	Sécheur - Fond	12905	0,99		Conforme
	Sécheur – Sortie	4461	0,51		Conforme
	Concasseur - Conduite supérieure	9609	0,80		Conforme
	Concasseur - Parois	13120	1,00		Conforme
	Concasseur - Couteaux-	15894	1,16		Conforme
	Vibreur - Parois	30290	1,98		Conforme
	Vibreur – sortie	124132	7,33		Conforme
	Mélangeur – Agitateur	116214	6,88		Conforme
	Mélangeur - Coté	77739	4,69		Conforme
	Elévateur mobile (fut)-Coté-	13328	1,01		Conforme
	Elévateur mobile (fut)-Sortie-	14696	1,09		Conforme
	Tamiseur – Bassin	14920	1,10		Conforme
	Tamiseur – Sortie	30729	2,01		Conforme

LOD = 0,043 µg/ml.

Les données brutes (chromatogrammes) sont présentées en annexe IV.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**B. Dosage de l'irbesartan dans les eaux de rinçage**

Les eaux de rinçage sont injectées directement dans les chromatographes. Les concentrations en irbesartan sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage. La quantité résiduelle d'irbesartan en µg/ml est donnée par les formules suivantes :

**Jour 1**

$$\text{Quantité résiduelle} = \frac{A_{ech} - 30468,222}{177893,836} \mu\text{g/ml}$$

**Jour 2**

$$\text{Quantité résiduelle} = \frac{A_{ech} - 8541,778}{192030,894} \mu\text{g/ml}$$

**Jour 3**

$$\text{Quantité résiduelle} = \frac{A_{ech} + 4446,222}{199335,391} \mu\text{g/ml}$$

Avec :  $A_{ech}$  est la surface du pic d'irbesartan dans la solution échantillon.

Les résultats obtenus pour les trois jours de validation sont présentés dans le tableau CLXII.

**Tableau CLXII : Résultats de la validation du nettoyage des équipements de granulation.  
Dosage des traces d'irbesartan dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	$A_{ech}$	Quantité résiduelle en µg/100 cm <sup>2</sup>	Norme	Statut du nettoyage
Jour 1	Granulateur	6178	< LOD	< 0,7 µg / ml	Conforme
	Sécheur	3814	< LOD		Conforme
	Concasseur	2373	< LOD		Conforme
	Vibreur	2453	< LOD		Conforme
	Mélangeur	1941	< LOD		Conforme
	Elévateur mobile	2671	< LOD		Conforme
Jour 2	Granulateur	ND	< LOD	< 0,7 µg / ml	Conforme
	Sécheur	ND	< LOD		Conforme
	Concasseur	ND	< LOD		Conforme
	Vibreur	ND	< LOD		Conforme
	Mélangeur	ND	< LOD		Conforme
	Elévateur mobile	ND	< LOD		Conforme
Jour 3	Granulateur	9548	0,07	< 0,7 µg / ml	Conforme
	Sécheur	8894	0,07		Conforme
	Concasseur	7359	0,06		Conforme
	Vibreur	16631	0,11		Conforme
	Mélangeur	8267	0,06		Conforme
	Elévateur mobile	6161	0,05		Conforme

ND : pic de l'irbesartan non détecté.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.5.1.4. Analyse microbiologique**

Les résultats des analyses microbiologiques (DGAT, DMLT et recherche des germes spécifiés) dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage sont présentés dans les tableaux CLXIII et CLXIV.

**Tableau CLXIII : Résultats de la validation du nettoyage des équipements de granulation. Analyses microbiologiques dans les prélèvements par écouvillonnage, jours 1,2 et 3**

Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100cm <sup>2</sup> )	200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	
Jour 1, 2 et 3	Granulateur	< 200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Sécheur	< 200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Concasseur	< 200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Vibreur	< 200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Mélangeur	< 200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Elévateur mobile	< 200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Tamiseur	< 200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme
	Flexible fond chariot	< 200 ufc/100cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	Conforme

**Tableau CLXIV : Résultats de la validation du nettoyage des équipements de granulation. Analyses microbiologiques dans les de rinçage, jours 1,2 et 3**

	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	< 10 <sup>4</sup> ufc/ 100 ml		Absence	Absence	
Jour 1	Granulateur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Sécheur	03	00	Absence	Absence	Conforme
	Concasseur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Vibreur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Mélangeur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Elévateur mobile	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Tamiseur	01	00	Absence	Absence	Conforme
Jour 2	Granulateur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Sécheur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Concasseur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Vibreur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Mélangeur	19	00	Absence	Absence	Conforme
	Elévateur mobile	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Tamiseur	00	00	Absence	Absence	Conforme
Jour 3	Granulateur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Sécheur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Concasseur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Vibreur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Mélangeur	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Elévateur mobile	01	00	Absence	Absence	Conforme
	Tamiseur	00	00	Absence	Absence	Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.5.1.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage**

Les résultats de la recherche de traces du détergent dans les eaux de rinçage par méthode colorimétrique (méthode validée par le fournisseur) sont présentés dans le tableau CLXV.

**Tableau CLXV : Résultats de la validation du nettoyage des équipements de granulation. Recherche de traces du détergent dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	Colorations			Traces du détergent	Norme	Statut
		Phase inférieur	Phase supérieur	Anneau d'émulsion			
Jour 1, 2 et 3	Granulateur	Aucune	Violette	Aucune	Absence	< 1 ppm	Conforme
	Sécheur	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Concasseur	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Vibreux	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Mélangeur	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Elévateur mobile	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Tamiseur	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Témoin C	Aucune	Violette	Aucune	Présence	Témoin positif	
Témoin A	Grise	Bleue	Grise – bleue	Absence	témoin négatif		

**2.5.2. Résultats de la validation du nettoyage du mélangeur octogonal**

**2.5.2.1. Inspection visuelle de l'équipement**

Après nettoyage du mélangeur octogonal suite à la fabrication du produit fini Hytacand et ce, à trois reprises, une inspection visuelle a été effectuée pour vérifier l'absence des résidus visibles du produit. Aucune tache n'a été observée sur la surface de l'équipement.

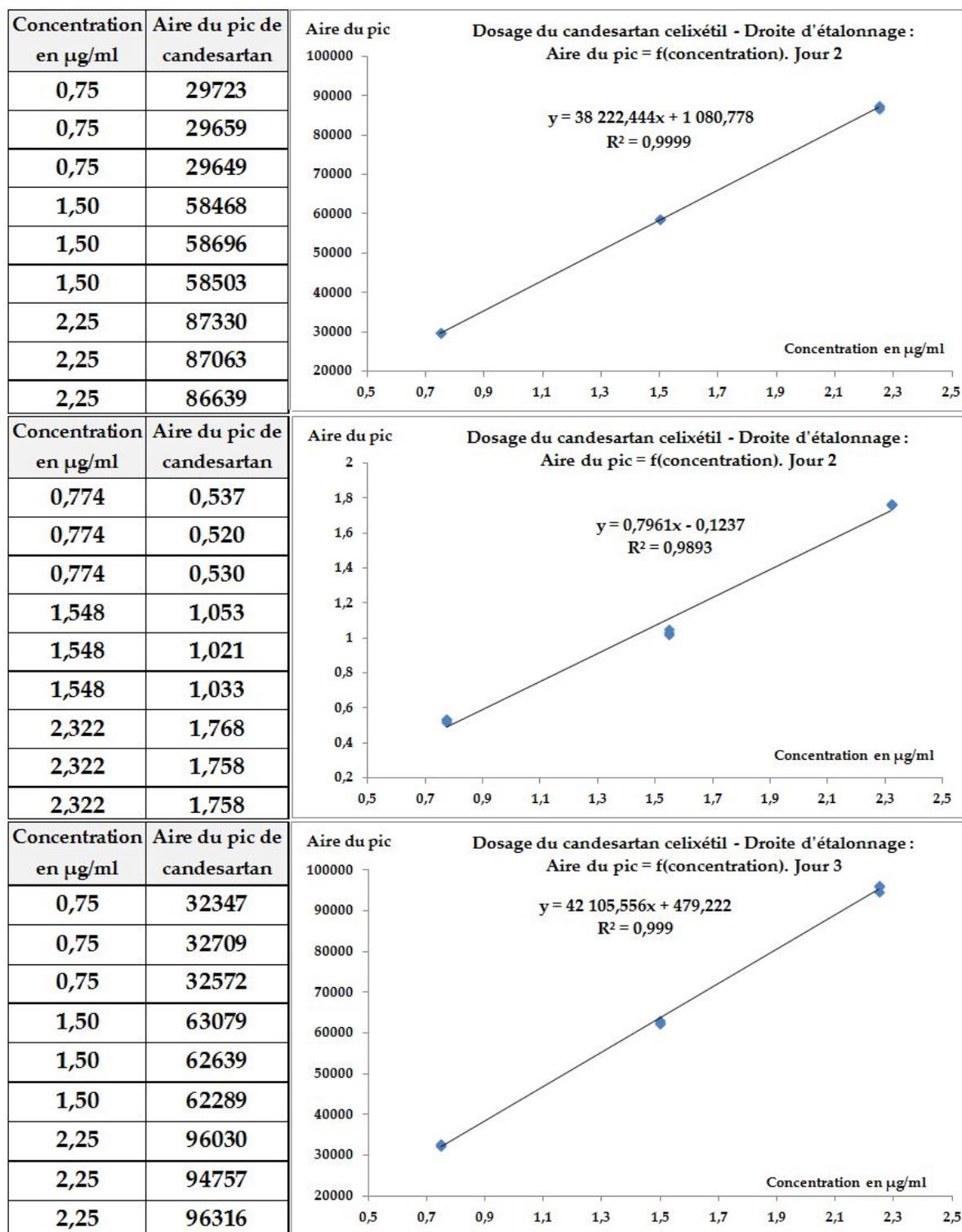
**2.5.2.2. Inspection visuelle des prélèvements**

Les écouillons et des eaux de rinçages après prélèvements en vue des analyses physicochimiques et microbiologiques sont vérifiés pour absence de taches ou de particules étrangères. Les résultats ne montrent aucun changement dans l'aspect de ces prélèvements.

**2.5.2.3. Analyse physicochimique : Dosage des traces du candesartan celixétil.**

- **Préparation de la gamme d'étalonnage** : Une gamme d'étalonnage comprenant trois niveaux de concentrations a été préparée. Une droite d'étalonnage est tracée pour chaque jour afin de quantifier le candesartan dans les prélèvements. Les droites obtenues sont présentées dans la figure 44.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**



**Figure 44 : Droite d'étalonnage - Aire du pic du candesartan celixetil = f(concentration) jours 1, 2 et 3**

Les équations des droites d'étalonnage sont déterminées comme suit ;

- Jour 1 :  $y = 38222,444 x + 1080,778$  (analyse faite sur une chaîne HPLC Waters).
- Jour 2 :  $0,7961 x - 0,1237$  (analyse faite sur une chaîne HPLC DIONEX).
- Jour 3 :  $42105,556 x + 479,222$  (analyse faite sur une chaîne HPLC Waters).

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Dosage du candesartan celixétil dans les prélèvements :**

Les prélèvements par écouvillonnage sont repris à l'intérieur des tubes à vis par 10 ml du solvant d'extraction. Les solutions ainsi obtenues sont injectées dans les chromatographes. Les concentrations en candesartan celixétil sont calculées à partir de la droite d'étalonnage en tenant compte du taux de recouvrement de 89,0%.

La quantité résiduelle du candesartan celixétil par unité de surface au niveau des points de prélèvement est donnée par les formules suivantes :

$$\text{Jour 1 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} - 1080,778)}{0,89 \times 38222,444} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

$$\text{Jour 2 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} + 0,1273)}{0,89 \times 0,7961} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

$$\text{Jour 3 : Quantité résiduelle} = \frac{10 \times (A_{ech} + 479,222)}{0,89 \times 42105,556} \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

Les eaux de rinçage sont injectées directement dans les chromatographes. Les concentrations en candesartan celixétil sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage. La quantité résiduelle en µg/ml est donnée par les formules suivantes :

$$\text{Jour 1 : Quantité résiduelle} = \frac{A_{ech} - 1080,778}{38222,444} \mu\text{g}/\text{ml}$$

$$\text{Jour 2 : Quantité résiduelle} = \frac{A_{ech} + 0,1237}{0,7961} \mu\text{g}/\text{ml}$$

$$\text{Jour 3 : Quantité résiduelle} = \frac{A_{ech} - 479,222}{42105,556} \mu\text{g}/\text{ml}$$

Avec :  $A_{ech}$  est la surface du pic du candesartan celixétil dans la solution échantillon.

Les résultats obtenus pour les trois jours de validation sont présentés dans le tableau CLXVI.

**Tableau CLXVI : Résultats de la validation du nettoyage du mélangeur octogonal : Dosage des traces du candesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Prélèvements par écouvillonnage					
Jours	Points prélevés	$A_{ech}$	Quantité résiduelle en µg/100 cm <sup>2</sup>	Norme	Statut du nettoyage
1	Coté latéral du mélangeur	ND	< LOD	8,1 µg / 100 cm <sup>2</sup>	Conforme
	Sortie du mélangeur	ND	< LOD		Conforme
2	Coté latéral du mélangeur	ND	< LOD		Conforme
	Sortie du mélangeur	0,196	4,5		Conforme
3	Coté latéral du mélangeur	ND	< LOD		Conforme
	Sortie du mélangeur	15735	4,1		Conforme
Prélèvements par les eaux de rinçage					
	Points prélevés	$A_{ech}$	Quantité résiduelle en µg/ml	Norme	Statut du nettoyage
1	Mélangeur octogonal	ND	< LOD	0,7 µg/ml	Conforme
2	Mélangeur octogonal	ND	< LOD		Conforme
3	Mélangeur octogonal	ND	< LOD		Conforme

ND : pic du candesartan non détecté

LOD = 0,0095 µg/ml.

Les données brutes (chromatogrammes) sont présentées dans l'annexe IV.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.5.2.4. Analyse microbiologique**

Les résultats des analyses microbiologiques (DGAT, DMLT) et la recherche des germes spécifiés dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage sont présentés dans le tableau CLXVII.

**Tableau CLXVII : Résultats de la validation du nettoyage du mélangeur octogonal : dénombrement microbien dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage– Jours 1, 2 et 3**

Prélèvements par écouvillonnage						
Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100cm <sup>2</sup> )	< 200 ufc/100 cm <sup>2</sup>		Absence	Absence	
1	Coté latéral du mélangeur	22	04	Absence	Absence	Conforme
2	Coté latéral du mélangeur	06	00	Absence	Absence	Conforme
3	Coté latéral du mélangeur	00	00	Absence	Absence	Conforme
Prélèvements par les eaux de rinçage						
Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	< 10 <sup>4</sup> ufc / 100 ml		Absence	Absence	
1	Mélangeur octogonal	80	00	Absence	Absence	Conforme
2	Mélangeur octogonal	06	00	Absence	Absence	Conforme
3	Mélangeur octogonal	00	00	Absence	Absence	Conforme

**2.5.2.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage**

Les résultats de la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage par méthode colorimétrique (méthode validée par le fournisseur) sont présentés dans le tableau CLXVIII.

**Tableau CLXVIII : Résultats de la validation du nettoyage du mélangeur octogonal. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage**

Jours	Points prélevés	Colorations			Traces du détergent	Norme	Statut
		Phase inférieur	Phase supérieur	Anneau d'émulsion			
1	Mélangeur octogonal	Aucune	Violette	Aucune	Absence	< 1 ppm	Conforme
2	Mélangeur octogonal	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
3	Mélangeur octogonal	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
Témoin C		Aucune	Violette	Aucune	Présence	Témoin positif	
Témoin A		Grise	Bleue	Grise – bleue	Absence	témoin négatif	

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.5.3. Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de compression**

**2.5.3.1. Inspection visuelle des équipements**

Après nettoyage de l'atelier de compression, une inspection visuelle des équipements notamment les endroits difficilement accessibles a été effectuée pour vérifier l'absence des résidus visibles du produit.

Les résultats sont présentés dans le tableau CLXIX pour les 3 jours de validation.

**Tableau CLXIX : Résultats de l'inspection visuelle de l'atelier de compression. Jours 1, 2 et 3**

	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
Jours 1, 2 et 3	Connecteur de la trémie	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Distributeur	Non		Conforme
	Tourelle	Non		Conforme
	Passerelle de séparation	Non		Conforme
	Dépoussiéreur	Non		Conforme
	Détecteur de métaux	Non		Conforme
	Poinçons	Non		Conforme

**2.5.3.2. Inspection visuelle des prélèvements**

Les écouvillons et des eaux de rinçages après prélèvement sont vérifiés pour absence des taches ou des particules étrangères.

Les résultats obtenus durant les trois jours de validation sont présentés dans le tableau CLXX.

**Tableau CLXX : Résultats de l'inspection visuelle des prélèvements de l'atelier de compression. Jours 1, 2 et 3**

Points de prélèvement	Aspect des Prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage						Norme	Résultats des trois jours
	Jour 1		Jour 2		Jour 3			
	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage		
Trémie (coté latérale)	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Aucune trace visible	Conforme
Trémie (conduite granulé)	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA		Conforme
Tourelle	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA		Conforme
Passerelle de séparation	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA		Conforme
Dépoussiéreur	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		Conforme
Détecteur de métaux (tapis en inox)	Conforme	NA	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		Conforme
Détecteur de métaux (conduite en PVC)	Conforme	Conforme	Conforme	NA	Conforme	NA		Conforme
Poinçons	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA		Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.5.3.3. Analyse physicochimique : Dosage du candesartan celixétil et de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.**

Le candesartan celixétil est le traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de l'atelier de compression, sauf pour la trémie et le fut (contenant le granulé) pour lesquels le candesartan celixétil n'est pas en contact.

Le nettoyage de ces deux parties est validé sur un autre traceur en l'occurrence l'irbesartan.

Suivant les mêmes étapes pour les équipements de granulation et le mélangeur octogonal, les résultats de dosage du candesartan celixétil et de l'irbesartan sont présentés dans les tableaux CLXXI et CLXXII.

**Tableau CLXXI : Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de compression : Dosage du candesartan celixétil et de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage – Jours 1, 2 et 3**

Points prélevés	Quantité résiduelle du Candesartan cilixétil (en µg/100cm <sup>2</sup> )			Norme (µg/100 cm <sup>2</sup> )	Résultats des trois jours
	Jour 1	Jour 2	Jour 3		
Trémie (conduite granulé)	< LOD	< LOD	1,1	≤ 8.1	Conforme
Trémie (coté latérale)	< LOD	< LOD	0,6		Conforme
Tourelle	< LOD	< LOD	0,7		Conforme
Passerelle de séparation	< LOD	< LOD	< LOD		Conforme
Dépoussiéreur	< LOD	< LOD	0,9		Conforme
Détecteur de métaux (trape en inox)	< LOD	< LOD	0,6		Conforme
Détecteur de métaux (conduite en PVC)	< LOD	2.0	0,6		Conforme
Poinçons	< LOD	< LOD	<LOD		Conforme
Distributeur (étoile)	1,5	4,61	2,3		Conforme
Distributeur (fond)	1,5	0,95	1,0		Conforme
Points prélevés	Quantité résiduelle de d'irbesartan (en µg/100 cm <sup>2</sup> )				Norme (µg/100 cm <sup>2</sup> )
	Jour 1	Jour 2	Jour 3		
Trémie	< LOQ	0,5	0,4	≤ 8.1	Conforme
Fut	< LOQ	0,5	0,4		Conforme

Les données brutes (chromatogrammes) sont présentées en annexe IV.

**Tableau CLXXII : Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de compression : Dosage du candesartan celixétel et de l'irbesartan dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Points prélevés	Quantité résiduelle du Candesartan cilixétel (en µg/ ml)			Norme (µg/ml)	Résultats des trois jours
	Jour 1	Jour 2	Jour 3		
Trémie (conduite granulé)	< LOD	< LOD	< LOD	≤ 0,7	Conforme
Dépoussiéreur	< LOD	< LOD	< LOD		Conforme
Détecteur de métaux	< LOD	< LOD	< LOD		Conforme
Distributeur	< LOD	< LOD	< LOD		Conforme
Points prélevés	Quantité résiduelle de d'irbesartan (en µg/ml)			Norme (µg/ml)	Résultats des trois jours
	Jour 1	Jour 2	Jour 3		
Trémie	< LOD	< LOD	< LOD	≤ 0,7	Conforme
Fut	< LOD	< LOD	< LOD		Conforme

LOD (candesartan celixétel) = 0,0095 µg/ml.

#### 2.5.3.4. Analyse microbiologique

Les résultats des analyses microbiologiques (DGAT, DMLT et recherche des germes spécifiés) dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage sont présentés dans le tableau CLXXIII.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CLXXIII : Validation du nettoyage de l'atelier de compression : Dénombrement microbien dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage- Jours 1, 2 et 3**

Prélèvements par écouvillonnage						
Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc / 100ml)	< 10 <sup>4</sup> ufc/ml		Absence	Absence	
1	Trémie (coté latéral	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie + Fut	00	00	Absence	Absence	Conforme
2	Trémie (coté latéral	00	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie + Fut	00	00	Absence	Absence	Conforme
3	Coté latéral du mélangeur	15	00	Absence	Absence	Conforme
	Trémie + Fut	00	00	Absence	Absence	Conforme
Prélèvements par les eaux de rinçage						
Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	< 10 <sup>4</sup> ufc/ 100 ml		Absence	Absence	
Jour 1	Connecteur de la trémie	80	00	Absence	Absence	Conforme
	Distributeur	01	00	Absence	Absence	Conforme
	Dépoussiéreur	19	00	Absence	Absence	Conforme
	Détecteurs de métaux	07	00	Absence	Absence	Conforme
	Fut + trémie	170	00	Absence	Absence	Conforme
Jour 2	Connecteur de la trémie	19	00	Absence	Absence	Conforme
	Distributeur	1260	00	Absence	Absence	Conforme
	Dépoussiéreur	70	00	Absence	Absence	Conforme
	Détecteurs de métaux	48	00	Absence	Absence	Conforme
	Fut + trémie	00	00	Absence	Absence	Conforme
Jour 3	Connecteur de la trémie	35	00	Absence	Absence	Conforme
	Distributeur	58	00	Absence	Absence	Conforme
	Dépoussiéreur	720	00	Absence	Absence	Conforme
	Détecteurs de métaux	22	00	Absence	Absence	Conforme
	Fut + trémie	00	00	Absence	Absence	Conforme

**2.5.3.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage**

Les résultats de la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage par méthode colorimétrique (méthode validée par le fournisseur) sont présentés dans le tableau CLXXIV.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CLXXIV : Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de compression. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	Colorations			Traces du détergent	Norme	Statut
		Phase inférieur	Phase supérieur	Anneau d'émulsion			
Jours 1, 2 et 3	Connecteur de la trémie	Aucune	Violette	Aucune	Absence	< 1 ppm	Conforme
	Distributeur	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Dépoussiéreur	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Détecteurs de métaux	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Fut + trémie	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Témoin C	Aucune	Violette	Aucune	Présence	Témoin positif	
	Témoin A	Grise	Bleue	Grise bleue	Absence	témoin négatif	

**2.5.4. Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de pelliculage**

**2.5.4.1. Inspection visuelle des équipements**

Après nettoyage de l'atelier de pelliculage, une inspection visuelle de l'équipement notamment les endroits difficilement accessibles a été effectuée pour s'assurer de l'absence des résidus visibles de produit.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau CLXXV pour les 3 jours de validation.

**Tableau CLXXV : Résultats de l'inspection visuelle de l'atelier de pelliculage pour les 3 jours de validation**

Jours 1, 2 et 3	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
	Tambour	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Parois	Non		Conforme

**2.5.4.2. Inspection visuelle des prélèvements**

Les écouvillons et des eaux de rinçages après prélèvement, sont vérifiés pour absence des taches et des particules étrangères.

Les résultats sont présentés dans le tableau CLXXVI.

**Tableau CLXXVI : Résultats de l'inspection visuelle des prélèvements de l'atelier de pelliculage. Jours 1, 2 et 3**

Points de prélèvement	Aspect des Prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage						Norme	Résultats des trois jours
	Jour 1		Jour 2		Jour 3			
	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage		
Tambour	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Aucune trace visible	Conforme
Parois	Conforme		Conforme		Conforme			Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.5.4.3. Analyse physicochimique : Dosage de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage**

L'irbesartan est retenu comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de la pelliculeuse. Les résultats obtenus durant les 3 jours de validation sont présentés dans le tableau CLXXVII.

**Tableau CLXXVII : Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de pelliculage : Dosage de l'irbesartan dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Prélèvement par écouvillonnage					
Points prélevés	Quantité résiduelle d'irbesartan (en µg/100cm <sup>2</sup> )			Norme (µg/100 cm <sup>2</sup> )	Résultats des trois jours
	Jour 1	Jour 2	Jour 3		
Tambour	< LOD	< LOD	< LOD	≤ 8.1	Conforme
Parois	< LOD	< LOD	< LOD		Conforme
Prélèvement par les eaux de rinçage					
Points prélevés	Quantité résiduelle d'irbesartan (en µg/ml)			Norme (µg/ml)	Résultats des trois jours
	Jour 1	Jour 2	Jour 3		
Pelliculeuse	< LOD	< LOD	< LOD	≤ 0,7	Conforme

LOD (irbesartan) = 0,043 µg/ml.

**2.5.4.4. Analyse microbiologique**

Les résultats des analyses microbiologiques (DGAT, DMLT et recherche des germes spécifiés) dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage sont présentés dans le tableau CLXXVIII.

**Tableau CLXXVIII : Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de pelliculage : Dénombrement microbien dans les prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3.**

Prélèvements par écouvillonnage						
Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	< 10 <sup>4</sup> ufc/ml		Absence	Absence	
1	Pelliculeuse	00	00	Absence	Absence	Conforme
2	Pelliculeuse	150	00	Absence	Absence	Conforme
3	Pelliculeuse	00	00	Absence	Absence	Conforme
Prélèvements par les eaux de rinçage						
Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	< 10 <sup>4</sup> ufc/ 100 ml		Absence	Absence	
1	Pelliculeuse	00	00	Absence	Absence	Conforme
2	Pelliculeuse	60	00	Absence	Absence	Conforme
3	Pelliculeuse	00	00	Absence	Absence	Conforme

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**2.5.4.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage**

Les résultats de la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage par méthode colorimétrique (méthode validée par le fournisseur) sont présentés dans le tableau CLXXIX.

**Tableau CLXXIX : Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de pelliculage. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	Colorations			Traces du détergent	Norme	Statut
		Phase inférieur	Phase supérieur	Anneau d'émulsion			
Jours 1, 2 et 3	Pelliculeuse	Aucune	Violette	Aucune	Absence	< 1 ppm	Conforme
	Témoin C	Aucune	Violette	Aucune	Présence		Témoin positif
	Témoin A	Grise	Bleue	Grise – bleue	Absence		Témoin négatif

**2.5.5. Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire**

**2.5.5.1. Inspection visuelle des équipements**

Après nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire, une inspection visuelle de l'équipement a été effectuée afin de vérifier l'absence des résidus visibles du produit.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau CLXXX pour les 3 jours de validation.

**Tableau CLXXX : Résultats de l'inspection visuelle de l'atelier de conditionnement primaire. Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	Présence de résidus visibles du produit	Norme	Statut
Jours 1, 2 et 3	Trémie	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Descente de la trémie	Non		Conforme
	Distributeur	Non		Conforme
	Racleur surface 01	Non		Conforme
	Racleur surface 02	Non		Conforme

**2.5.5.2. Inspection visuelle des prélèvements**

Les écouvillons et les eaux de rinçages après prélèvement sont vérifiés pour s'assurer de l'absence des taches et des particules étrangères.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau CLXXXI.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CLXXXI : Résultats de l'inspection visuelle des prélèvements de l'atelier de conditionnement primaire. Jours 1, 2 et 3**

Points de prélèvement	Aspect des Prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage						Norme	Résultats des trois jours
	Jour 1		Jour 2		Jour 3			
	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage	Ecouvillonnage	Eaux de rinçage		
Trémie	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Absence de traces visible	Conforme
Descente de la trémie	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		Conforme
Distributeur	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA		Conforme
Racleur surface 1	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA		Conforme
Racleur surface 2	Conforme	NA	Conforme	NA	Conforme	NA		Conforme

**2.5.5.3. Analyse physicochimique : Dosage du candesartan celixétil dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage.**

Le candesartan celixétil est retenu comme traceur physicochimique pour la validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire. Les résultats obtenus durant les 3 jours de validation sont présentés dans le tableau CLXXXII.

**Tableau CLXXXII : Validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire : Dosage du candesartan celixétil dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage – Jours 1, 2 et 3**

Prélèvement par écouvillonnage					
Points prélevés	Quantité résiduelle du candesartan celixétil (en µg/100cm <sup>2</sup> )			Norme (µg/100 cm <sup>2</sup> )	Résultats des trois jours
	Jour 1	Jour 2	Jour 3		
Trémie	< LOD	< LOD	< LOD	≤ 8,1	Conforme
Descente de la Trémie	< LOD	0,02	< LOD		Conforme
Distributeur	< LOD	0,05	< LOD		Conforme
Racleur surface 01	< LOD	04	< LOD		Conforme
Prélèvement par les eaux de rinçage					
Points prélevés	Quantité résiduelle du candesartan celixétil (en µg/ml)			Norme (µg/ml)	Résultats des trois jours
	Jour 1	Jour 2	Jour 3		
Trémie	< LOD	< LOD	< LOD	≤ 0,7	Conforme
Descente de la trémie	< LOD	< LOD	< LOD		Conforme

LOD = 0,0095 µg/ml.

**2.5.5.4. Analyse microbiologique**

Les résultats des analyses microbiologiques (DGAT, DMLT et recherche des germes spécifiés) dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage sont présentés dans le tableau CLXXXIII.

**PARTIE EXPERIMENTALE - CHAPITRE IV : VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE FABRICATION DES FORMES SECHES - COMPRIMES**

**Tableau CLXXXIII : Validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire : Dénombrement microbien dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage– Jours 1, 2 et 3**

Prélèvements par écouvillonnage						
Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	< 10 <sup>4</sup> ufc/ml		Absence	Absence	
1	Trémie	00	00	Absence	Absence	Conforme
2	Trémie	01	00	Absence	Absence	Conforme
3	Trémie	00	00	Absence	Absence	Conforme
Prélèvements par les eaux de rinçage						
Jours	Points prélevés	DGAT	DMLT	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Statut
	Normes (ufc /100ml)	< 10 <sup>4</sup> ufc/ 100 ml		Absence	Absence	
1	Trémie	03	00	Absence	Absence	Conforme
	Descente de la trémie	00	00	Absence	Absence	Conforme
2	Trémie	01	00	Absence	Absence	Conforme
	Descente de la trémie	00	00	Absence	Absence	Conforme
3	Trémie	03	00	Absence	Absence	Conforme
	Descente de la trémie	08	00	Absence	Absence	Conforme

**2.5.5.5. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage**

Les résultats de la recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage par méthode colorimétrique (méthode validée par le fournisseur) sont présentés dans le tableau CLXXXIV.

**Tableau CLXXXIV : Résultats de la validation du nettoyage de l'atelier de conditionnement primaire. Recherche des traces du détergent dans les eaux de rinçage– Jours 1, 2 et 3**

Jours	Points prélevés	Colorations			Traces du détergent	Norme	Statut
		Phase inférieure	Phase supérieure	Anneau d'émulsion			
Jours 1, 2 et 3	Trémie	Aucune	Violette	Aucune	Absence	< 1 ppm	Conforme
	Descente de la trémie	Aucune	Violette	Aucune	Absence		Conforme
	Témoin C	Aucune	Violette	Aucune	Présence	Témoin positif	
	Témoin A	Grise	Bleue	Grise – bleue	Absence	témoin négatif	

**2.5.6. Discussion :**

Le nettoyage des équipements de fabrication des comprimés de Biopharm industrie a été effectué selon des procédures de nettoyage dument rédigées et approuvées, une série de contrôles a été effectuée sur des prélèvements afin de statuer sur la validité du procédé de nettoyage.

- L'inspection visuelle des ateliers de fabrication après nettoyage a montré l'absence des traces visibles de produits sur les surfaces des équipements.
- L'aspect des prélèvements (écouvillons et eaux de rinçage) est sans anomalies décelables.
- Les taux résiduels des traceurs physicochimiques (irbesartan et candesartan celixétil) retrouvés dans les deux types de prélèvements (écouvillonnage et eaux de rinçage) après fabrication à trois reprises des produits pires cas, sont inférieurs aux limites d'acceptation et ce, pour chaque point prélevé de la ligne de fabrication des comprimés. Ce qui atteste de la validité du nettoyage de cette ligne de point de vue physicochimique.
- Le dénombrement des microorganismes (DGAT + DMLT) et la recherche des germes spécifiés (*E. Coli* et *P. aeruginosa*) dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage ont aussi fourni des résultats conformes aux spécifications préétablies. Le nettoyage des équipements de fabrication des comprimés objet de la présente étude est donc valide de point de vue microbiologique.
- Les traces du détergent ont été recherchées dans les eaux de rinçage pour analyses physicochimiques, les résultats obtenus ont démontré l'absence du détergent dans le prélèvement en question et par suite, sur les surfaces des équipements.

**3. Conclusion de la validation du nettoyage de la ligne de fabrication des formes sèches - comprimés.**

Le nettoyage des équipements de la ligne de fabrication des formes sèches-comprimés de Biopharm industrie a fait objet de validation selon la stratégie des pires cas et suivant les deux approches, traditionnelle et la nouvelle basée sur la dose journalière admissible d'un contaminant (PDE).

Pour chacune des deux approches, des critères de sélection ont été définis et des échelles pour la cotation de ces critères ont été établies. Un score final comme critère de jugement a été calculé pour chaque produit. Le produit **pires cas** correspond à celui ayant obtenu le **score le plus élevé**. A l'issue de cette étude, deux produits pires cas ont été dégagés, à savoir, l'irbesartan et le candesartan celixétel, chacun pour des ateliers et des équipements bien précis.

La validation du nettoyage des équipements de la ligne de fabrication des formes sèches - comprimés - était déjà validée selon l'approche traditionnelle, l'introduction de la nouvelle approche PDE n'a eu aucun impact sur la validité du nettoyage de ladite ligne.

Pour le dosage de l'irbesartan et du candesartan celixétel à l'état de traces, une méthode par HPLC pour chaque principe actif est mise au point au laboratoire de contrôle qualité de Biopharm industrie, les techniques sont adaptées à la limite d'acceptation de la ligne des formes sèches - comprimés - et validées selon la procédure de validation analytique de l'entreprise. Les limites de quantification des méthodes sont inférieures aux limites d'acceptation du nettoyage, ce qui confère à ces méthodes l'aptitude de doser les traces de ces principes actifs.

Les taux de recouvrement de la méthode de prélèvement par écouvillonnage en vue du dosage des traces de l'irbesartan sont déterminés sur une gamme de trois (03) niveaux de concentrations. Le taux de recouvrement moyen est de 88,0%. De la même façon, le taux de recouvrement pour la méthode de prélèvement du candesartan celixétel a été déterminé, une moyenne de 89% est calculée pour les trois niveaux de concentrations.

Un plan de prélèvements a été établi, les points critiques de la ligne des formes sèches - comprimés - ont été définis. Deux modes de prélèvement ont été retenus à savoir, le prélèvement par écouvillonnage et le prélèvement par les eaux de rinçage.

La reproductibilité de l'efficacité du procédé de nettoyage a été démontrée à trois reprises, après fabrication de chaque produit pire cas et nettoyage des équipements. Tous les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques et microbiologiques ont été conformes aux limites spécifiées.

**Le nettoyage des équipements de fabrication de la ligne des formes sèches - comprimés - de Biopharm industrie est donc valide selon la stratégie des pires cas.**

**CONCLUSION GENERALE ET  
PERSPECTIVES**

## CONCLUSION \_ PERSPECTIVES

L'industrie pharmaceutique a pour mission principale la mise sur le marché des médicaments répondant aux critères de qualité, d'efficacité et de sécurité. Afin d'accomplir cette mission dans les conditions les plus adéquates, un arsenal de textes réglementaires et une multitude de guides des bonnes pratiques sont édictés par les autorités de santé publique, ce qui fait du médicament, un produit hautement surveillé et contrôlé.

Dans le but de garantir la qualité des médicaments fabriqués et de sécuriser la santé des patients utilisateurs, la lutte contre la contamination occupe une position clé. La maîtrise de cette contamination doit être connue et inscrite dans une approche globale de gestion des risques au sein d'une entreprise. Le nettoyage des équipements de fabrication est le processus qui fiabilise l'élimination de toutes sortes de contaminations, il fait partie intégrante d'un procédé de fabrication et doit faire l'**objet de validation** en tant qu'opération pharmaceutique à part entière.

Les réglementations en vigueur exigent à tout industriel pharmaceutique de valider le nettoyage des équipements de fabrication des médicaments, notamment pour les sites multiproduits. Ces réglementations ont connu une évolution spectaculaire en allant d'une simple vérification visuelle de la propreté des équipements jusqu'à l'établissement des limites d'exposition basées sur le risque que pourrait entraîner une contamination d'un médicament sur la santé du patient. Cette approche, nouvellement introduite par l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) a été reprise par les guides de bonnes pratiques de fabrication (PBF). L'élément clé de cette approche est la détermination d'une dose journalière admissible d'un contaminant chimique à laquelle peut s'exposer un individu pendant toute sa vie sans entraîner des effets néfastes sur sa santé. Cette dose est désignée par l'acronyme "PDE" qui signifie **Permitted Daily Exposure** ou bien **Exposition Journalière Admissible**.

La détermination des valeurs de PDE est une démarche très complexe et fastidieuse, car elle fait appel aux données des essais précliniques, réalisés sur des animaux de laboratoire notamment la toxicité à doses répétées. Une extrapolation vers des données humaines est faite en tenant compte de l'espèce animale, de la durée de l'étude et des effets observés.

Durant ce travail, nous avons appliqué la stratégie des « **pires cas** » à la validation du nettoyage des équipements de fabrication d'un site multiproduits en introduisant l'approche PDE telle qu'est recommandée par la ligne directrice de l'EMA et les nouvelles versions des guides de bonnes pratiques de fabrication.

Le matériel de travail consiste d'une part, en les équipements des lignes de productions et de la centrale de pesée et d'autre part, en le matériel de contrôle, les réactifs et les milieux de cultures utilisés pour la recherche des traces de contaminants dans les différents types de prélèvements.

Les lignes de fabrication concernées par cet étude sont ;

- Ligne de fabrication des formes pâteuses (crème, gel et suppositoire).
- Ligne de fabrication des formes sèches (comprimés).

Outre ces lignes de fabrication, nous avons validé le nettoyage d'une centrale de pesée.

Le matériel de contrôle concerne : des chromatographes liquides à haute performance (HPLC), des balances de précision, de la verrerie et du consommable de laboratoire, des réactifs chimiques et des milieux de cultures des bactéries et des levures.

En ce qui concerne la méthodologie de travail, la stratégie des pires cas a été appliquée pour la validation du nettoyage, cette stratégie repose sur les éléments suivants ;

- Choix des traceurs (physicochimique et microbiologique).
- Détermination des critères d'acceptation.
- Mise au point des méthodes d'analyse (physicochimique et microbiologique).
- Détermination des taux de recouvrements pour les méthodes de prélèvement.
- Démonstration de la reproductibilité du procédé de nettoyage.

Le choix d'un traceur repose sur des critères de sélection (physicochimiques, toxicologique, valeur de PDE en analyse physicochimique et spécifications du dénombrement microbien et l'activité antimicrobienne en analyse microbiologique), un coefficient est attribué à chaque critère et un score final est calculé pour chaque produit. Le « **produit pire cas** » correspond à celui ayant obtenu le **score le plus élevé**.

Les critères d'acceptation concernent : l'aspect des équipements et des prélèvements, les teneurs limites en contaminants (physicochimique et microbiologique) et les limites en traces de détergent.

Les méthodes d'analyses doivent être adaptées aux taux résiduels des contaminants et validées selon les référentiels de validation des méthodes analytiques.

La méthode de prélèvement par écouvillonnage doit être validée et le taux de recouvrement doit être déterminé, ce dernier doit couvrir une gamme de concentrations contenant la limite d'acceptation et doit être reproductible. La moyenne des recouvrements doit être supérieure à 70% (recommandation SFSTP).

Enfin, la reproductibilité du nettoyage doit être démontrée à trois reprises, en obtenant à chaque fois des résultats conformes pour l'ensemble des endroits définis dans un plan de prélèvements.

Ce travail a été réalisé au niveau de l'entreprise pharmaceutique Algérienne **Biopharm -Industrie** et concerne quatre (04) validations du nettoyage à savoir :

- Validation du nettoyage de la centrale de pesée.
- Validation du nettoyage des équipements de fabrication de la ligne crème et gel.
- Validation du nettoyage des équipements de fabrication de la ligne suppositoires.
- Validation du nettoyage des équipements de fabrication des comprimés.

Pour chacune de ces quatre validations, les résultats obtenus sont résumés comme suit ;

- L'aspect des équipements après nettoyage n'a pas montré de résidus visibles de produits.
- L'aspect des prélèvements (écouvillons et eaux de rinçage) a donné des résultats conformes à savoir, absence de taches, de particules dans les prélèvements.

## CONCLUSION \_ PERSPECTIVES

- Les taux résiduels des contaminants physicochimiques retrouvés dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage sont inférieurs aux limites d'acceptation et ce, pour chaque point prélevé, ce qui atteste de la validité du nettoyage de point de vue physicochimique.
- Les dénombrements des microorganismes (DGAT + DMLT) et recherche des germes spécifiés dans les prélèvements par écouvillonnage et dans les eaux de rinçage sont conformes aux limites spécifiées. Le nettoyage de la centrale de pesée et les différentes lignes de fabrication est donc valide de point de vue microbiologique.
- La recherche des traces des détergents selon les méthodes validées par les fournisseurs dans les eaux de rinçage, ne présente pas des traces au-delà des seuils tolérés.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ont satisfait aux critères d'acceptation ce qui démontre que les procédés de nettoyage de la centrale de pesées, des lignes crèmes et gels, suppositoires et formes sèches sont valides. Des revalidations sont envisageables dans le cadre de la maîtrise des changements et de la revalidation périodique.

Du point de vue méthodologique, notre travail a apporté deux nouveautés à la pratique de validation de nettoyage.

**La première** nouveauté concerne le développement d'une approche pour la validation du nettoyage d'une centrale de pesée. Cette approche repose d'une part, sur l'établissement des critères de sélection des substances pires cas, soit en analyse physicochimique soit en analyse microbiologique et d'autre part, sur l'établissement des limites d'acceptation.

**La seconde** nouveauté correspond à l'application de l'approche PDE conformément à la ligne directrice de l'EMA ainsi que la récente version du guide des BPF. Cette approche s'est concrétisée dans un premier temps par le calcul des valeurs de PDE à des dizaines de principes actifs et dans un deuxième temps, par la mise en place d'une démarche quantitative pour le choix du traceur et l'établissement des limites d'acceptation en analyse physicochimique. Une étude d'impact de l'introduction de l'approche PDE sur un nettoyage déjà valide est effectuée et une méthode de maîtrise des changements est proposée. Ceci correspond parfaitement aux nouvelles recommandations et exigences de qualité régissant la validation du nettoyage.

Dans notre travail, le nettoyage des lignes de production des formes crèmes, gels, pommades, suppositoires et comprimés a été validé selon l'approche traditionnelle. L'introduction de l'approche PDE n'a eu aucun impact sur la validité du nettoyage de ces lignes de fabrication.

A l'issue de ce travail, nous concluons que nos objectifs sont largement atteints. En outre, nos recommandations portent essentiellement sur la **rédaction d'un guide national de validation du nettoyage** et sur la **mise en place d'une base de données** par un groupe d'experts afin de calculer des valeurs de PDE pour les médicaments listés dans la nomenclature nationale.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Dandjinou MI. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : Validation de nettoyage : enjeux et mise en place. Université de Lille 2 Année Universitaire, France. 2011/2012 ; p 16,20, 51.
2. Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication. Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des Produits de santé. 30 déc. 2016, p 20, 103 ; 154-155 ; 159 ; 283 ; 285-287.
3. Bailly J, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : Stratégie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique. France, université Claude Bernard - Lyon I Faculté de pharmacie. 19 Mai 2004 ; p 30-31, 45-46, 65.
4. Baricault A. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : Validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : cas pratique d'un projet de changement d'agent de nettoyage. U.F.R des sciences pharmaceutiques – Université de Bourdeaux, France. 28 Novembre 2014 ; p 17-27, 33, 37-38, 73.
5. Trehel C. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : Gestion du risque de contamination croisée en industrie pharmaceutique. U.F.R des sciences pharmaceutiques – Université de Bordeaux ; France. 06 Mars 2015 ; p 11-13, 17-21.
6. Bolzan C. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : La validation de nettoyage en industrie pharmaceutique : validation des prérequis, principe et application au cas particulier d'une centrale de pesées. Université Henri Poincare - NANCY 1 ;France. 09 Dec 2008 ; p 29-30 , 33-34, 60, 67, 90, 102, 105.
7. Ledoux C. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : Analyse de risques appliquée à la validation de nettoyage des équipements de fabrication de médicaments aérosol. Université de ROUEN, UFR de Médecine et de Pharmacie. France. 27 Oct 2014 ; p 23, 28.
8. Sliwinski F. Le nettoyage, un élément majeur de l'assurance qualité : techniques et validation .Th D Pharm ; Lille. 1995.
9. Lamouille E. De la mise au point à la validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique. Ph D Pharm ; Clermont I. 2004.
10. Norme AFNOR X50-109. Management de projet - Recommandations pour l'analyse et la modélisation graphique d'actions et son utilisation pour une meilleure communication entre les acteurs d'un projet - Aitiographie. Déc 1991.
11. Laban F , Cauwet F, Champault V. Validation des procédés de nettoyage, rapport de la commission SFSTP. STP Pharma Pratique. 1996. 6 (1) 5-40.
12. BOUHERROU H, SERAY M. Mémoire de fin études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie, option chimie du médicament: Validation de nettoyage des équipements de production pharmaceutique par la méthode des pires cas. Application à la ligne de fabrication des formes pâteuses de BIOPHARM INDUSTRIE. Université des Sciences Techniques Houari BOUMEDIENE. 2010.
13. Cleaning Validation and Critical Cleaning Processes, Conference Proceedings – IVT. Dublin, Ireland. June 19-20 2002 ;
14. MOURNA H. Thèse pour le diplôme de doctorat en pharmacie : Validation de nettoyage des équipements de production des formes pâteuses. Université MOHAMMED V, Faculté de Médecine et de Pharmacie - RABAT. 2010 ; p 8-13.
15. Norme NF EN ISO 862 : Agents de surface – Vocabulaire. Oct 1995.
16. Laban F, Cauwet M, Champault V, Dampffhoffer P R, Delestre E, Detoc S et al. Validation of cleaning procedures. S.T.P Pharma Pratiques. 1997 Juillet ; 2 : 87-127
17. Types Of Cleaning Detergents disponible sur <https://www.gsa.gov/portal/content/113006>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

18. Le nettoyage en salle propre, guide, méthodes et bonnes pratiques. Document réalisé pour le guide de l'ultra propreté. Bureau de la connaissance des marchés industriels. 5<sup>e</sup> édition, 2005.
19. Historique d'une alerte résolue : Furosemide Teva 40mg, comprimé sécable, Juin 2013 [réf. du 28 Octobre 2014], Disponible sur <http://ansm.sante.fr/Dossiers/Furosemide-Teva-40-mg-comprime-secable>.
20. Santé Canada - Inspectorat de la Direction générale des produits de santé et des aliments. Lignes directrices des Bonnes pratiques de fabrication (BPF) – édition 2009, version 2 – Date d'entrée en vigueur 4 Mars 2011.
21. Santé Canada - Inspectorat de la Direction générale des produits de santé et des aliments. Directives sur la validation des procédés de nettoyage – Guide 0028, 4 Janvier 2008.
22. Validation of Cleaning Processes (7/93). GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES. FDA 1993.
23. ICH Q7 : Good Manufacturing Practices guide for active pharmaceutical ingredients. ICH harmonised tripartite guideline. *step 4* version dated 10 November 2000.
24. Laban C , Bouloumie M, Bousquet-Bedu J , Cavil A, Dumant F, Durand *et al.* Validation des procédés de nettoyage. S.T.P Pharma Pratiques. 2000 ; 10 (5) : 270-271.
25. LABON.F, ALBADINE. J, BARBU. M, COLLARD. M, GONCALVES. C, « Méthodes de prélèvement et méthodes analytiques pour le contrôle et/ou la validation du nettoyage », STP pharma pratique, volume 15-N<sup>o</sup> 1(2005).
26. LABON F, ALBADINE J, BARBU M, COLLARD M, GONCALVES C. « Méthodes de prélèvement et méthodes analytiques pour le contrôle et/ou la validation du nettoyage ». STP pharma pratique. 2006 Volume 16-N3.
27. Recommendations on Validation Master Plan, IQ & OQ, Non Sterile Process Validation, Cleaning Validation, PIC/S. September 2007.
28. Pharmaceutical Inspection Convention Pharmaceutical Inspection Co-Operation Scheme PIC/S, PE 009-13. Guide to good manufacturing practice for medicinal products. Annexes, Genève 01/01/2017.
29. LADET M C. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : Maîtrise du risque de contamination croisée sur un site pharmaceutique multiproduits injectables. UFR Santé, Université Angers. France. 25 nov 2016 ; p 57-58 , 67.
30. Pharmacopée européenne . EDQM 9ème édition . 2017; tome 1 page.
31. MICHAEL JD, MANNFRED AH. Handbook of toxicology. Second edition. SECTION 9. Toxicity classifications. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. 2002 ; page 1080.
32. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Essai de dénombrement microbien. Pharmacopée européenne. EDQM. 2017 ; édition 9.0 chapitre 2.6.12, page 212.
33. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche des microorganismes spécifiés. Pharmacopée européenne. EDQM. 2017 ; édition 9.0, chapitre 2.6.13, page 213.
34. DEMARTINI AM. La validation du nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : application à un laveur de verrerie dans un laboratoire de contrôle. Université de Bordeaux, France. UFR de Pharmacie. 2014.
35. Michel C, Ester LB, Andreas F , David G, Dolan , Mohammad O. Cleaning Limits—Why the 10-ppm and 0.001-Dose Criteria Should be Abandoned. Andrew Walsh. Pharmaceutical Technology. Volume 40, Issue 8, pg 45–55

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

36. European Medicines Agency, Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities. United Kingdom . 20 Nov 2014; page 4.
37. European Medicines Agency, Questions et réponses sur la prévention du risque de contamination croisée dans la production et «Ligne directrice pour l'établissement de limites d'exposition fondées sur la santé pour l'identification des risques associés à la fabrication de différents médicaments dans des installations partagées» (EMA / CHMP / CVMP / SWP / 169430 / 2012). 15 Décembre 2016 ; page 1.
38. Yeong-Chul P, Myung-Haing C. A New Way in Deciding NOAEL Based on the Findings from GLP-Toxicity Test. Official journal of Korean society of toxicology. Corée de Sud. August 2011; Vol 27, N°3,.
39. ICH Q3C (R6) – Impurities : Guideline for Residual Solvents. Step 4 20 Oct 2016; p 15-16.
40. DEVAUX P, DRAFT. ANNEXE 15 DES BPF : comprendre les nouveautés du chapitre consacré à la validation du nettoyage. Congrès A3P Maroc. Marrakech les 2 et 3 Avril 2015.
41. Institut National de Recherche et de Sécurité Français, Chapitre 7 : les valeurs limites d'exposition professionnelle : un outil concret pour la prévention des risques chimiques, page 173. Disponible sur le site [http://travail-emploi.gouv.fr/IMG/pdf/Chap\\_07.pdf](http://travail-emploi.gouv.fr/IMG/pdf/Chap_07.pdf)
42. U.S. Department of Health and Human Services - Food and Drug Administration - Center for Drug Evaluation and Research. Reviewer guidance: validation of chromatographic methods. FDA – November 1994.
43. 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) . Analytical Procedures and Methods Validation. Guidance for Industry (Draft guidance). July 2015.
44. 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) . Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics. Guidance for Industry July 2015.
45. Commission des Communautés européennes. Groupe de travail du Comité des spécialités pharmaceutiques. Qualité du médicament. Note explicative ; Validation analytique. III/844/87-FR ; août 1989.
46. Validation of analytical procedures used in the examination for pharmaceutical materials (WHO) Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. 32<sup>nd</sup> Report, Geneva, WHO 1992 (WHO Technical Report Series, No. 823).
47. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH harmonised tripartite guideline "Text on validation of analytical procedures Q2A". Step 4, 27 October 1994.
48. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH harmonised tripartite guideline "Validation of analytical procedures : Methodology Q2B". Step 4, 6 November 1996.
49. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH harmonised tripartite guideline "Validation of analytical procedures : Text and Methodology Q2(R1)". Step 4, November 2005.
50. CAPORAL-GAUTIER J, NIVET JM et al. Guide de validation analytique-Rapport d'une commission SFSTP ; Partie I. Méthodologie : STP PharmaPratiques. 1992 ; 2 (4) :205-226.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

51. CAPORAL-GAUTIER J, NIVET JM et al. Guide de validation analytique-Rapport d'une commission SFSTP ; Partie II. Exemples d'application. STP PharmaPratiques2 (4).1992 ; 227-239.
52. CHAPUZET E, MERCIER N et al. Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques : stratégie de validation. Rapport d'une commission SFSTP. STP Pharma Prat. 1997 ; 7, 169-194.
53. CHAPUZET E, MERCIER N et al. Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques : Exemple d'application de la stratégie de validation. Rapport d'une commission SFSTP. STP Pharma Pratiques. 1998 ; 8 (2) : 81-107.
54. HUBERT P, NGUYEN-HUU J J et al. Validation des procédures analytiques quantitatives » : Harmonisation des démarches. STP Pharma Pratiques - volume 13 - N° 3.2003 ; 101-138.
55. HUBERT P, NGUYEN-HUU J J et al. Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches. Partie II : Statistiques. STP Pharma Pratiques - volume 16 - N° 1. 2006 ; 28-58.
56. HUBERT P, NGUYEN-HUU J J et al. Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches. Partie III : Exemples d'application, paru dans STP Pharma Pratiques. 2006 ; volume 16 - N° 2 : 87-121.
57. Norme ISO/CEI 17025:2005(fr) . Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. Anonyme: <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso-iec:17025:ed-2:v2:fr>.
58. Feinberg M. Mise en œuvre du profil d'exactitude. In: Validation des méthodes d'analyse quantitative par le profil d'exactitude [Internet]. 2010 [cité 6 mars 2017]. p. 27-44. Disponible sur : [https://www6.inra.fr/cahier\\_des\\_techniques/content/download/3290/31795/version/1/file/45\\_Feinberg\\_valid.pdf](https://www6.inra.fr/cahier_des_techniques/content/download/3290/31795/version/1/file/45_Feinberg_valid.pdf)
59. SDS Acarbose, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 18-06-2013.
60. SDS Acebutolol hydrochloride, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 19-07-2013.
61. SDS Aspirin, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 08-08-2014.
62. SDS Alendronate sodium, USP, version 4.0, page 4, Revision date: 04-09-2015.
63. Nippon Noyaku Gakkaishi. Journal of the Pesticide Science Society of Japan. Vol. 19, Pg. S27, 1994.
64. SDS Amlodipine besilate, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 31-03-2014.
65. SDS Aripirazole, USP. Version 2.0, page 4, Revision date: 03-10-2014
66. SDS Aspartam, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 18-03-2015
67. SDS Benzalkonium Chloride, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 18-05-2017.
68. SDS Sodium Benzoate, USP, version 3.0, page 4, Revision date: 06-06-2014.
69. Food and Cosmetics Toxicology. Vol. 2, Pg. 327, 1964.
70. SDS Betamethasone, USP, version 3.0, page 4, Revision date: 10-02-2014.
71. Shikoku Igaku Zasshi. Shikoku. Medical Journal. Vol. 29, Pg. 153, 1973
72. SDS Betasistostérol, USP, version 2.0 PAGE 4, Revision date: 05-10-2013.
73. Gigiena Truda i Professional'nye Zabolevaniya. Labor Hygiene and Occupational Diseases. Vol. 33(5), Pg. 30, 1989.
74. SDS Bisoprolol Fumarate, USP, version 3.0, page 4, Revision date: 27-07-2017
75. SDS Caffeine, USP, version 4.0, page 4, Revision date: 09-04-2015 Journal of New Drugs. Vol. 5, Pg. 252, 1965.
76. SDS Calcium Carbonate, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 03-02-2015.
77. SDS Candesartan célixetil, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 03-13-2014.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

78. SDS Carbamazepinel, USP, version 5.0, page 5, Revision date: 16-06-2017.
79. Drugs in Japan Vol. 6, Pg. 190, 1982.
80. Gekkan Yakuji. Pharmaceuticals Monthly. Vol. 24, Pg. 1705, 1982.
81. SDS Methacrylic Acid Copolymer Type A,B,C, USP, version 1.0, page 4
82. SDS Cetyl alcohol, USP, version 4.0, page 4, Revision date: 21-07-2015.
83. Science Reports of the Research Institutes, Tohoku University, Series C: Medicine. Vol. 36(1-4), Pg. 10, 1989.
84. Personal Communication from P. Schmitz, Bayer AG, 5090 Leverkusen, Bayerwerk, Fed. Rep. Ger., April 4, 1986Vol. 04APR1986.
85. SDS Chlorpromazine Hydrochloride, USP, version 3.0, page 5, Revision date: 22-07-2015.
86. Oyo Yakuri. Pharmacometrics. Vol. 20, Pg. 109, 1980.
87. SDS Clobetasol Propionate, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 06-06-2014.
88. SDS Diclofenac Potassium, USP, version 3.0, page 4, Revision date: 11-09-2015.
89. SDS Diclofenac Sodium, USP, version 2.0, page 4-5, Revision date: 27-12-2013.
90. Monograph product. Novartis Consumer Health Canada Inc, November 27, 2009. Page 23-25.
91. SDS Dihydroergotamine Mesylate, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 09-08-2013.
92. Yakuri to Chiryō. Pharmacology and Therapeutics. Vol. 8, Pg. 3991, 1980.
93. SDS Donepezil Hydrochloride, USP, version 3.0, page 4, Revision date: 22-06-2015.
94. SDS Alcohol, USP, version 9.0, page 4, Issue date: 19-10-2017
95. SDS Ezitimibe, USP, version 1.0, page 4, Issue date: 18-10-2013.
96. SDS Furosemide, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 08-03-2013.
97. Product Monograph Fucindin. Leo Pharma Inc, page 13. Date de révision 8 avril 2013.
98. SDS Gliclazide, British Pharmacopeia, page 5. Révision 13-05-2013.
99. SDS Glycerin, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 15-07-2014.
100. Farmaco, Edizione Scientifica. Vol, 31. Pg. 442, 1976.
101. Arzneimittel-Forschung. Drug Research. Vol. 24, Pg. 45, 1974.
102. SDS Hydrochlorothiazide, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 03-10-2013;
103. Kenkyū Nenpō--Tokyōtoritsu Eisei Kenkyūsho. Annual Report of Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health. Vol. 22, Pg. 231, 1970.
104. Science Reports of the Research Institutes, Tohoku University, Series C: Medicine. Vol. 36(1-4), Pg. 10, 1989.
105. SDS Irbesatan, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 20-03-2014
106. SDS ketoprofen, USP, version 3.0, page 4, Revision date: 23-07-2015.
107. SDS Lactose monohydrate, USP, version 4.0, page 4, Revision date: 09-05-2016.
108. SDS Lanolin, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 11-07-2016.
109. SDS Menthol, USP, version 2.0, page 4, Revision date: 21-11-2014.
110. SDS Levomepromazine, DEQM, Version 1.0, date d'émission 31-05-2017.
111. SDS Thermo Fisher Scientific. Revision number 2. Revision date 24-05-2017.
112. SDS Mannitol, USP, version 02, page 4, Revision date: 23-05-2013.
113. German Offenlegungsschrift. Patent Document. Vol. #2821584.
114. SDS Metoclopramide Hydrochloride, USP, version 04, page 4, Revision date: 08-09-2015.
115. SDS Metronidazol, USP, version 02, page 4, Revision date: 11-04-2014.
116. SDS Metronidazol Benzoate, USP, version 02, page 4, Revision date: 11-04-2014.
117. SDS Olanzapine, USP, version 03, page 4, Revision date: 15-07-2015.
118. SDS Omeprazole, USP, version 02, page 4, Revision date: 14-01-2014
119. SDS Acetaminophen, USP, version 02, page 4, Revision date: 28-06-2013.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

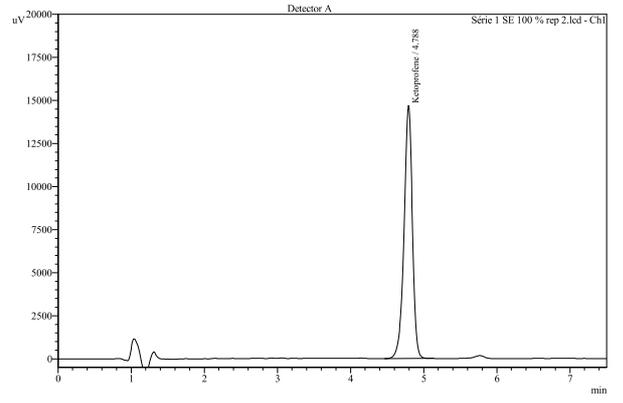
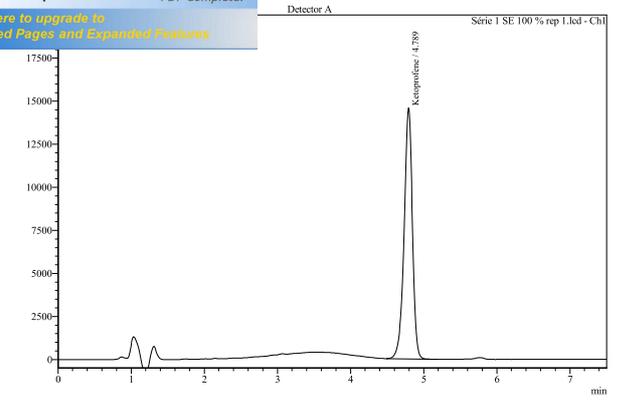
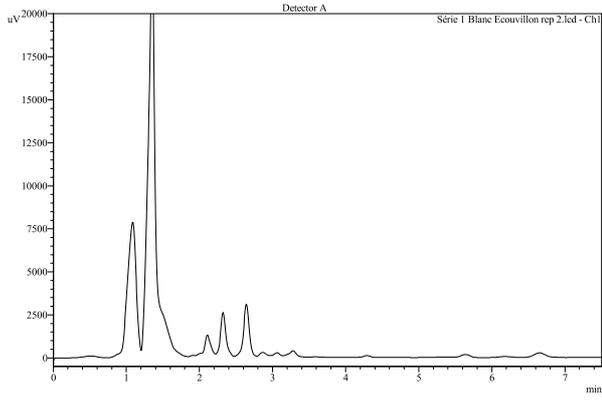
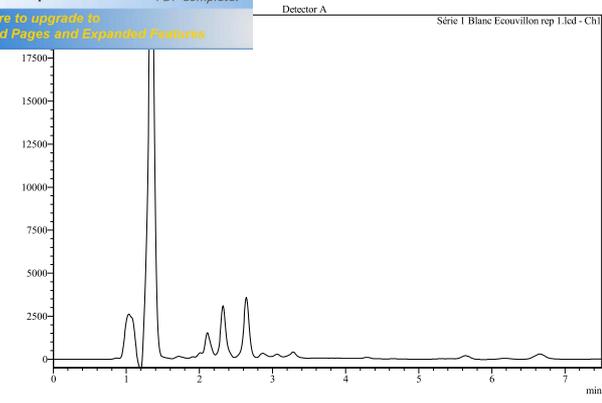
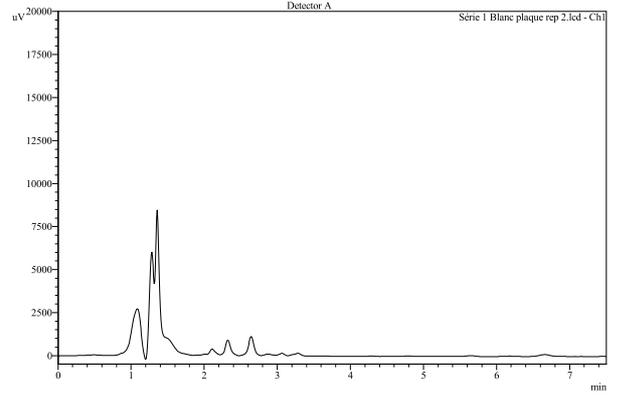
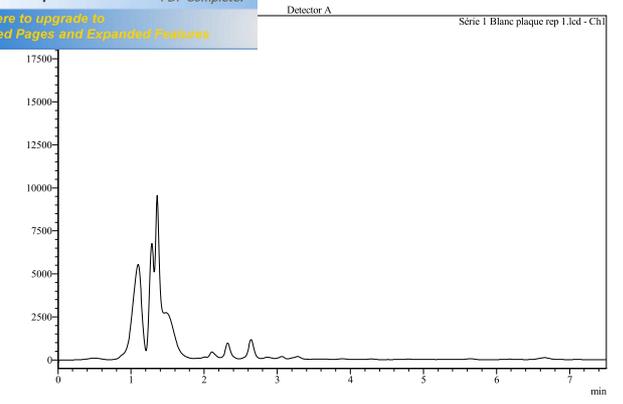
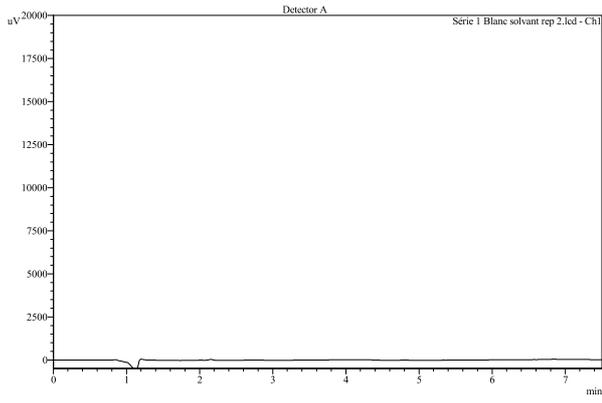
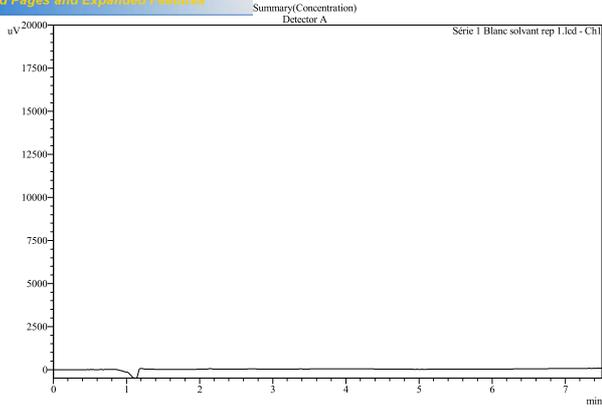
120. SDS Methylparaben, USP, version 02, page 4, Revision date: 28-10-2014.
121. SDS Propylparaben, USP, version 02, page 4, Revision date: 28-10-2014.
122. SDS Ethylparaben, USP, version 02, page 4, Revision date: 30-10-2014.
123. SDS Paroxetine Hydrochloride, USP, version 03, page 4, Revision date: 09-08-2013.
124. SDS Pheniramine Maleate, USP, version 05, page 4, Revision date: 09-09-2015.
125. SDS Phenobarbital, USP, version 03, page 4, Revision date: 07-10-2015.
126. SDS Phenylephrine Hydrochloride, USP, version 04, page 4, Revision date: 20-03-2017.
127. SDS Piroxicam, USP, version 02, page 4, Revision date: 08-08-2013
128. SDS Polysorbate 20, USP, version 02, page 4, Revision date: 26-07-2013.
129. SDS Pregabalin, Pfizer. Version 3.1, page 5. Revision date: 30-Jan-2017.
130. SDS Propylene Glycol, USP, version 03, page 4, Revision date: 22-10-2014.
131. Journal of Pharmaceutical Sciences. Vol. 60, Pg. 1523, 1971.
132. Journal of Pharmacy and Pharmacology. Vol. 45, Pg. 186, 1993.
133. SDS Resorcinol, USP, Version 04, page 4. Revision date: 09-07-2015.
134. SDS Risperidone, USP, Version 08, page 4. Revision date: 15-09-2015.
135. SDS Rivastigmine Tartrate, USP. Version 03, page 4. Revision date 15-09-2015.
136. SDS Ruscoginin, Cleansynth. Page 3.
137. SDS Surcose, USP, Version 03, page 2. Revision date 18-12-2014.
138. "Handbook of Toxicology," 4 vols, Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1956-59Vol. 5, Pg. 148, 1959
139. BIOFAX Industrial Bio-Test Laboratories, Inc., Data Sheets. Vol. 21-3/1971,
140. SDS Sertaconazole nitrate, Sigma-Aldrich, version 5.4. page 4. Revision Date 05-10-2014.
141. SDS Sildenafil citrate, Pfizer. Version 1.0, page 5. Revision date: 06-12-2011.
142. SDS Silice, sciences lab page 4, 21-05-2013.
143. SDS Potassium sorbate, USP, Version 02, page 4. Revision date: 19-03-2015.
144. SDS Sorbitol, USP, Version 02, page 4. Revision date: 13-05-2015.
145. Therapie. Vol. 23, Pg. 161, 1968.
146. Japanese Journal of Antibiotics. Vol. 23, Pg. 429, 1970.
147. SDS Terbinafine, EDQM, Version 01, page 4. Date d'émission: 31-05-2017.
148. Chimica Therapeutica. Vol. 2, Pg. 254, 1967.
149. SDS Tramadol HCl Pfizer. Version 1.4, page 6. Revision date: 04-04-2015.
150. SDS Trimibutine, Ruscoginin. Pfizer. Version 3.0, page 5. Revision date: 03-11-2014.
151. SDS Trimipramine Maleate, USP, Version 02, page 4. Revision date: 07-08-2013.
152. Gigiena Truda i Professional'nye Zabolevaniya. Labor Hygiene and Occupational Diseases. Vol. 26(2), Pg. 54, 1982.
153. Rapport de validation analytique de la méthode de dosage de traces de kétoprofène obtenue sur logiciel on line – ENOVA version 4.0. page 8, 18 Février 2018.
154. Méthode de recherche de traces de détergent « amine tertiaire » dans les eaux de rinçage, méthode interne – Laboratoire de contrôle qualité. Biopharm.
155. [www.vidal.fr](http://www.vidal.fr)
156. New Drug Application (NDA) 21-835 : Pharmacology / Toxicology review and evaluation - Clobex spray 0,05%. CDER -FDA. Date de révision 09/08/2005, Page 36.
157. Méthode de recherche de traces de détergent « ammonium quaternaire » dans les eaux de rinçage, méthode interne – Laboratoire de contrôle qualité. Biopharm.
158. SDS Ketoprofène, Zoetis, Page 6. Version 2.5, Date de révision 20 Mars 2015.
159. NDA 20-272 (S-036): Pharmacology / Toxicology review and evaluation - Risperdal. CDER -FDA. Page 51-52. Date de révision 12 juin 2006.

# ANNEXES

# **Annexe I**

**Données brutes (chromatogrammes) : Validation de nettoyage  
de la centrale de pesée –**

**Validation de la méthode de dosage de traces de  
kétoprofène**

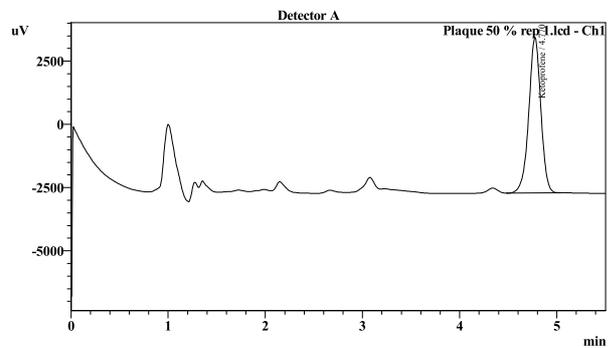
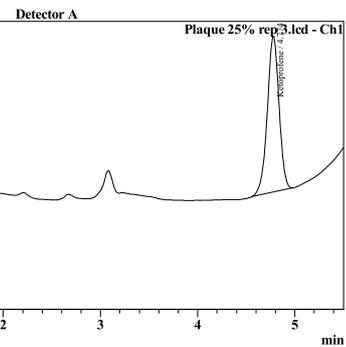


<< Detector A >>

Title	Sample Name	Sample ID	Ketoprofène
Série 1 Blanc solvant rep 1.lcd	ketoprofène	BLANC SOLV R	0
Série 1 Blanc solvant rep 2.lcd	ketoprofène	BLANC SOLV R	0
Série 1 Blanc Ecoouvillon rep 1.lcd	ketoprofène	BLANC ECOU	0
Série 1 Blanc Ecoouvillon rep 2.lcd	ketoprofène	BLANC ECOU	0
Série 1 Blanc plaque rep 1.lcd	ketoprofène	BLANC PLAQU	0

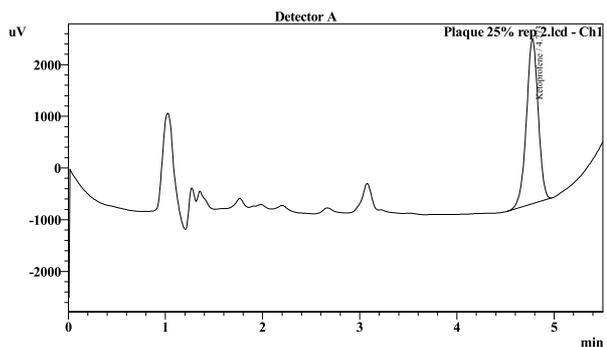
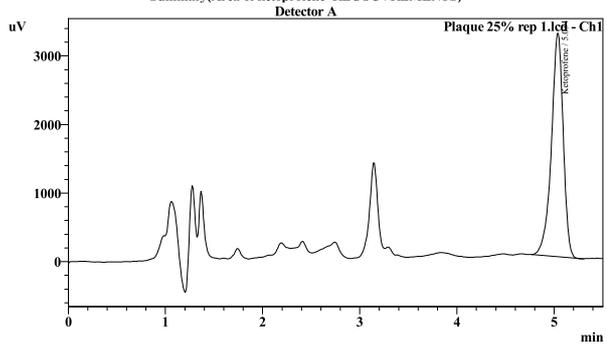
Sample ID	Ketoprofene
BLANC PLAQ	0
Series 01- STD 1	114856
Series 01- STD 2	116344
Series 01- STD 3	115600
Average	0.910
Maximum	116344
Minimum	114856
Standard Deviation	1052

Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features

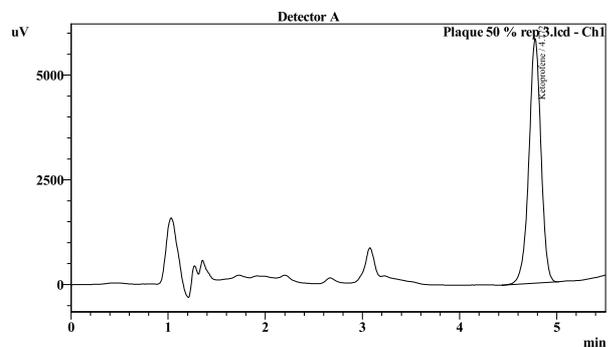
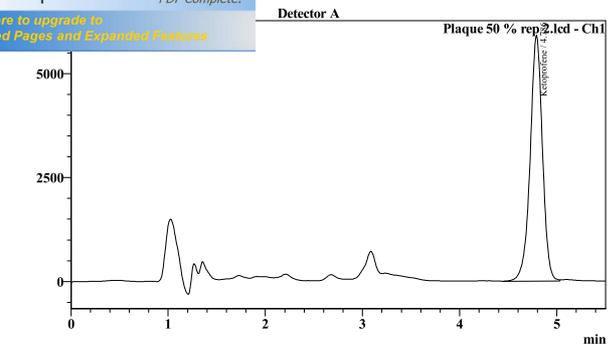


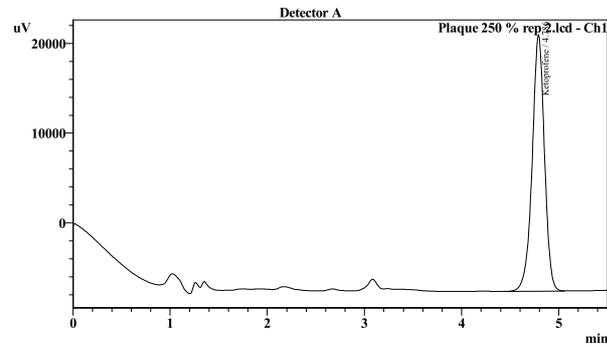
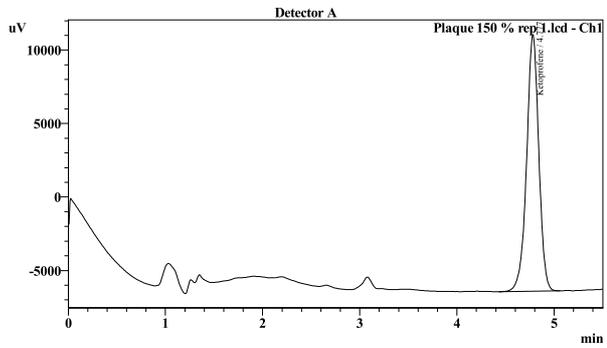
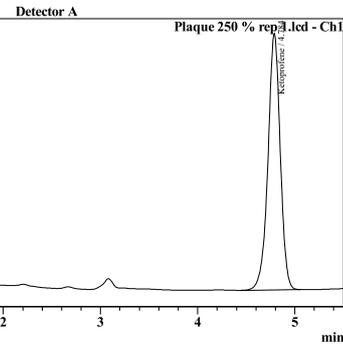
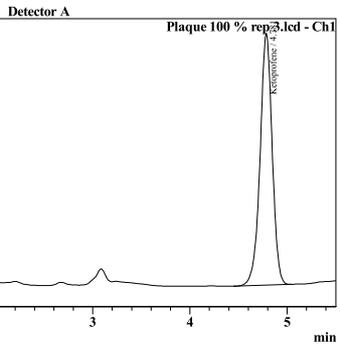
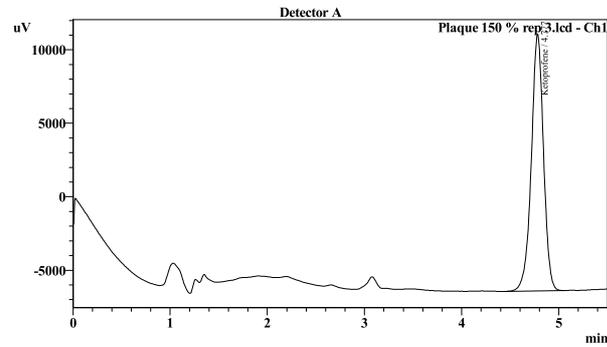
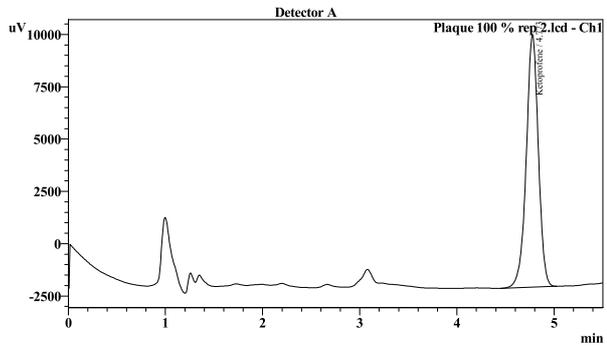
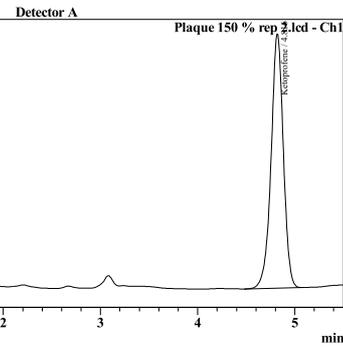
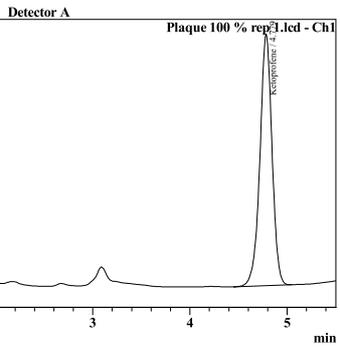
Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features

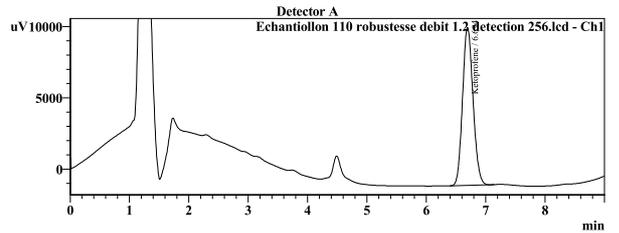
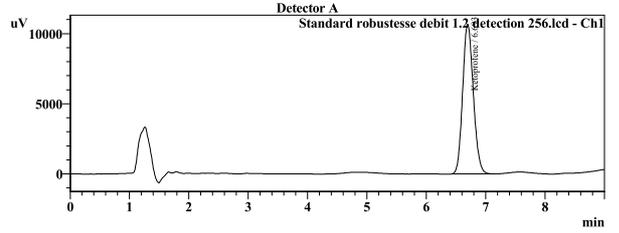
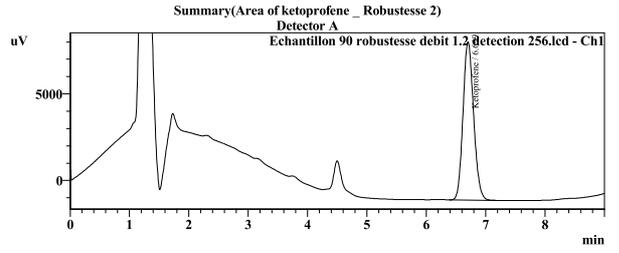
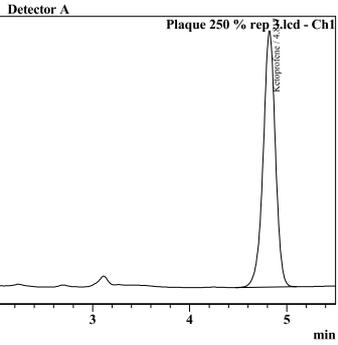
Summary(Area of ketoprofene RECOUVREMENTS)



Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features

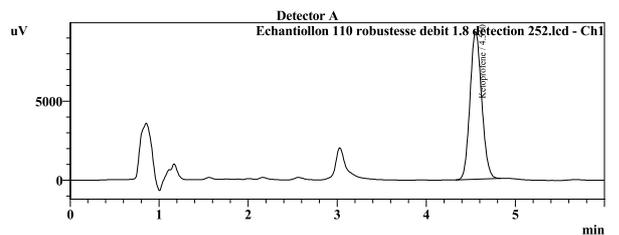
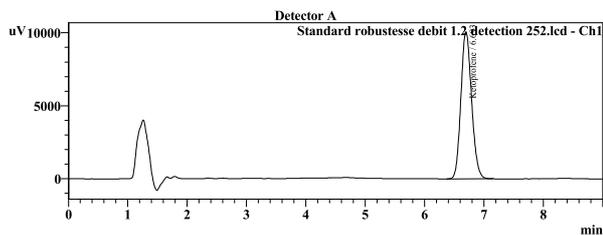
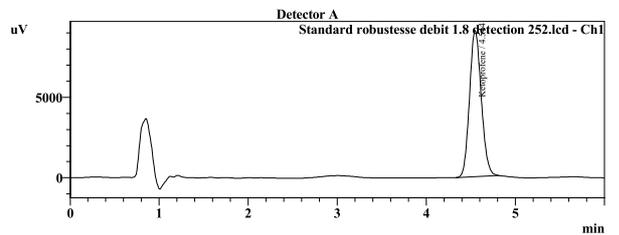
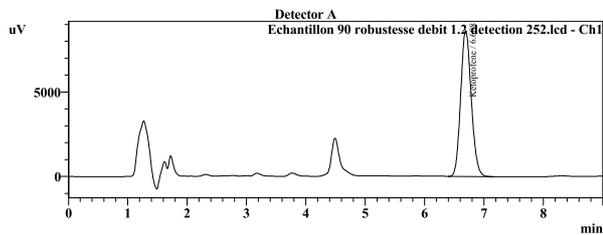
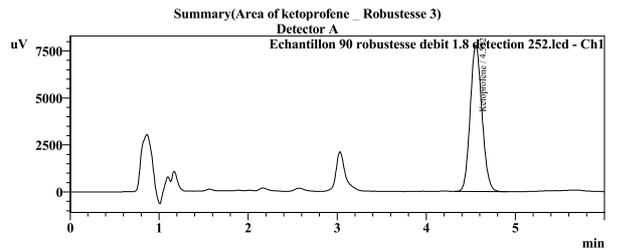
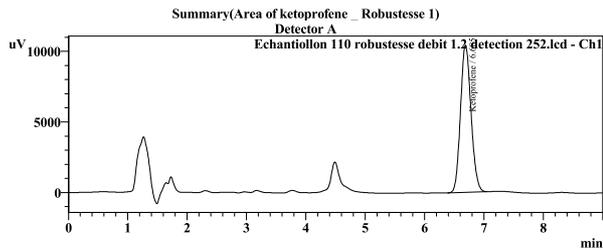






<< Detector A >>

Title	Sample Name	Sample ID	Ketoprofene
Echantillon 90 robustesse debit 1.2 dete	Ketprofene	Robustesse	113429
Standard robustesse debit 1.2 detection	Ketprofene	Robustesse	133175
Echantillon 110 robustesse debit 1.2 de	Ketprofene	Robustesse	136353

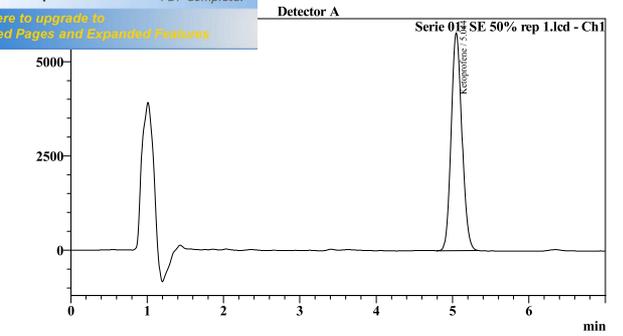
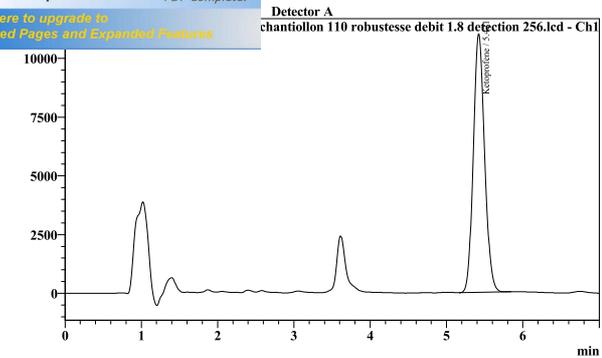
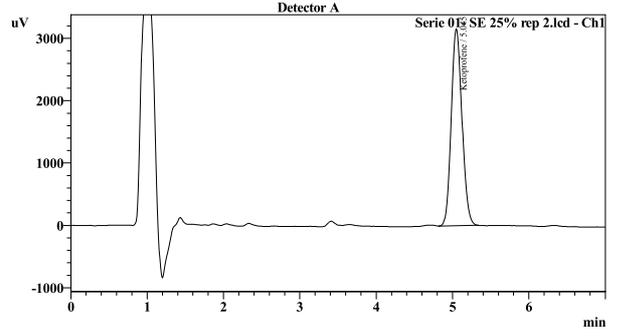
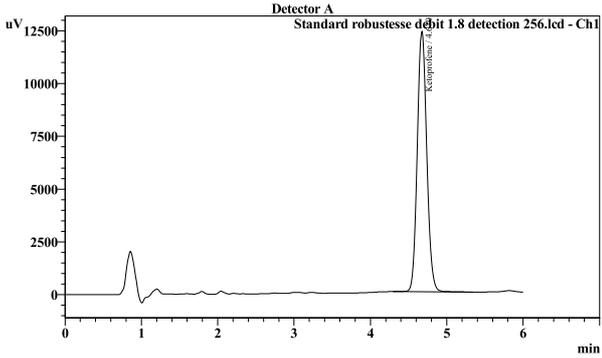
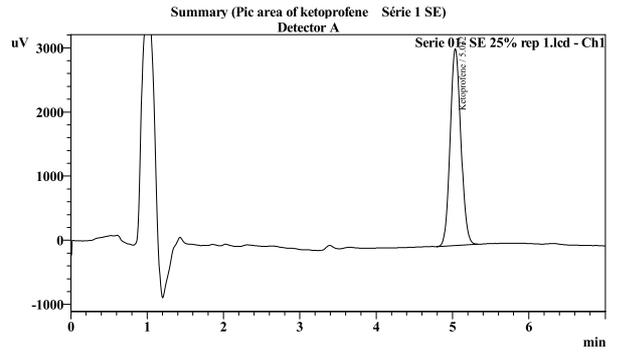
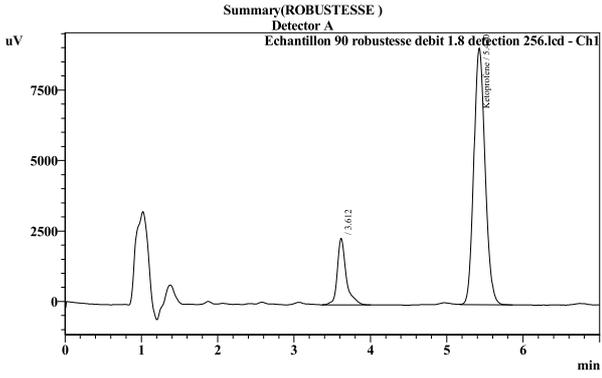


<< Detector A >>

Title	Sample Name	Sample ID	Ketoprofene
Echantillon 110 robustesse debit 1.2 de	Ketprofene	Robustesse	128463
Echantillon 90 robustesse debit 1.2 dete	Ketprofene	Robustesse	107191
Standard robustesse debit 1.2 detection	Ketprofene	Robustesse	126134

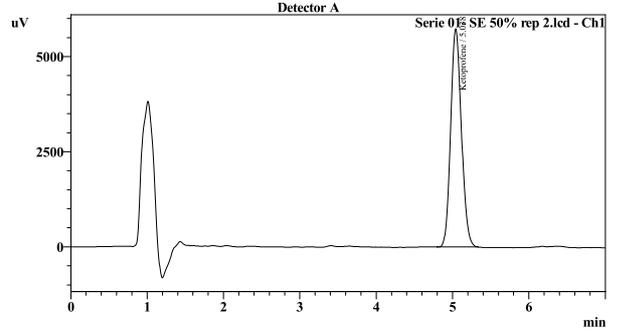
<< Detector A >>

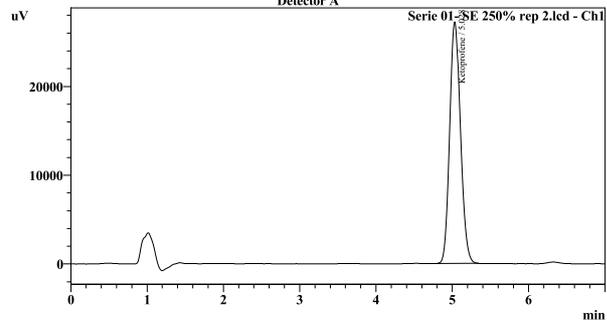
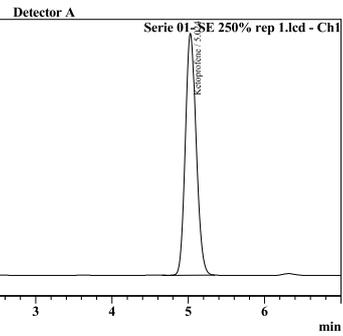
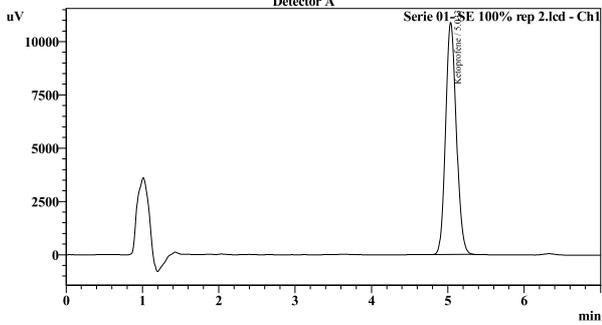
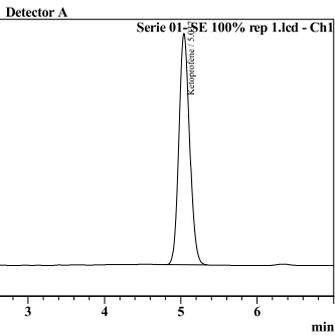
Title	Sample Name	Sample ID	Ketoprofene
Echantillon 90 robustesse debit 1.8 dete	Ketprofene	Robustesse	71529
Standard robustesse debit 1.8 detection	Ketprofene	Robustesse	83208
Echantillon 110 robustesse debit 1.8 de	Ketprofene	Robustesse	85126



<< Detector A >>

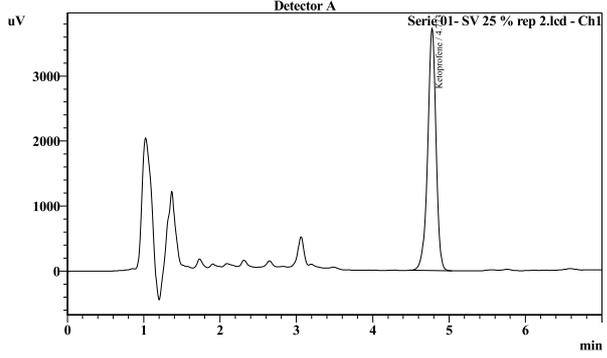
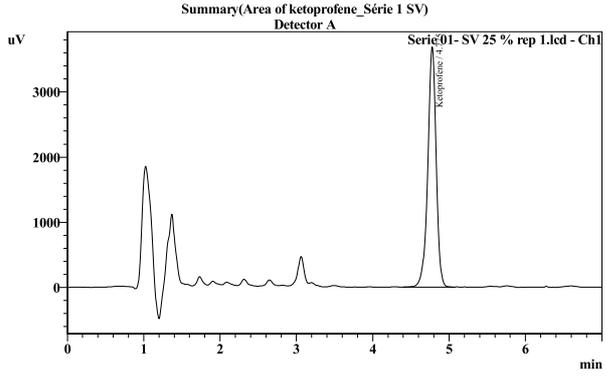
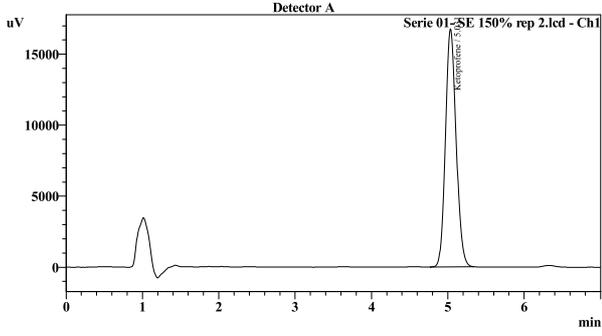
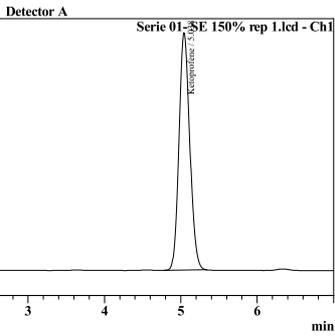
Title	Sample Name	Ketoprofene
Echantillon 90 robustesse debit 1.8 detection 256.lcd	Ketprofene	93894
Standard robustesse debit 1.8 detection 256.lcd	Ketprofene	105669
Echantillon 110 robustesse debit 1.8 detection 256.lcd	Ketprofene	113405

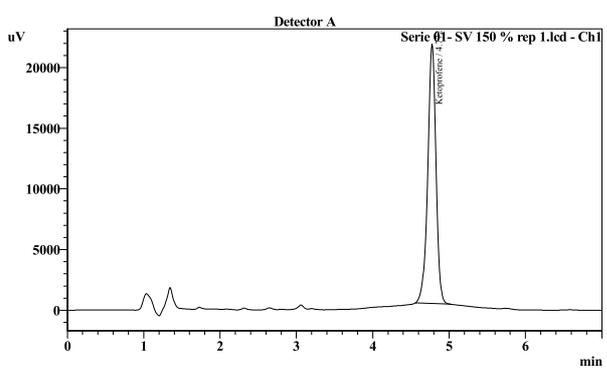
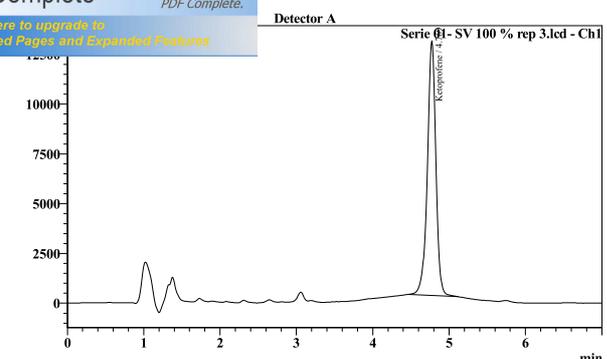
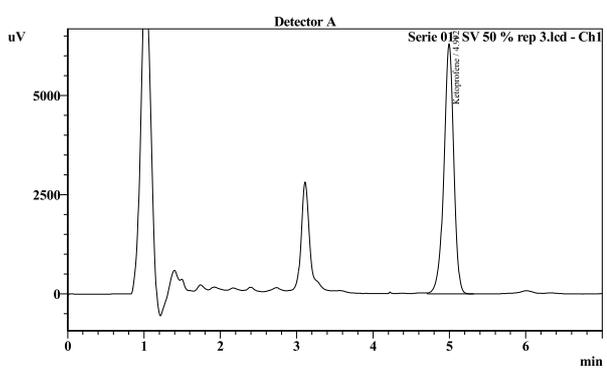
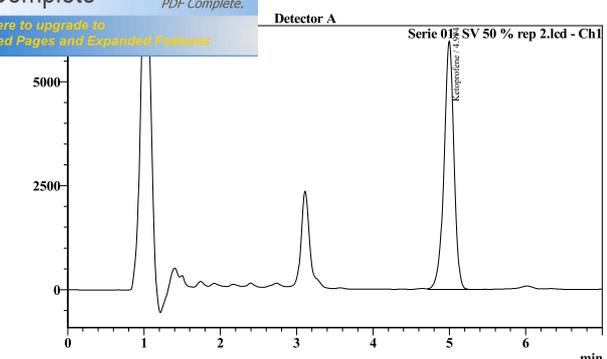
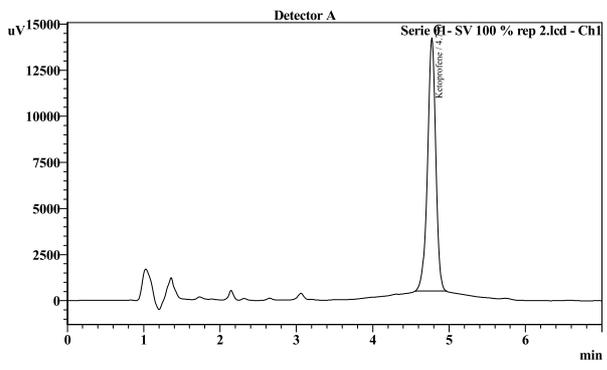
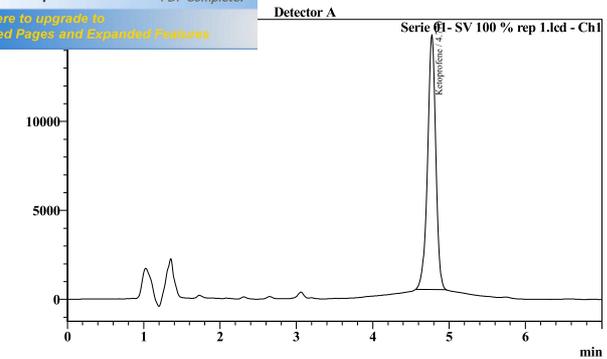
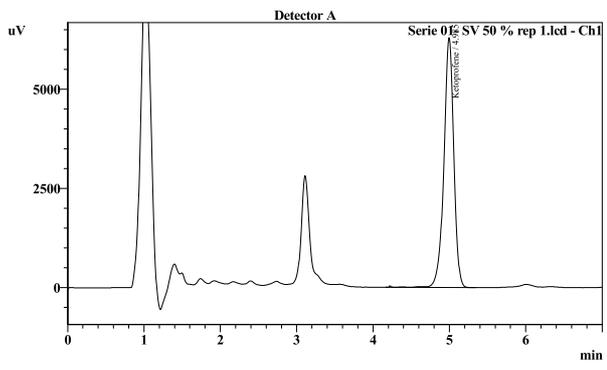
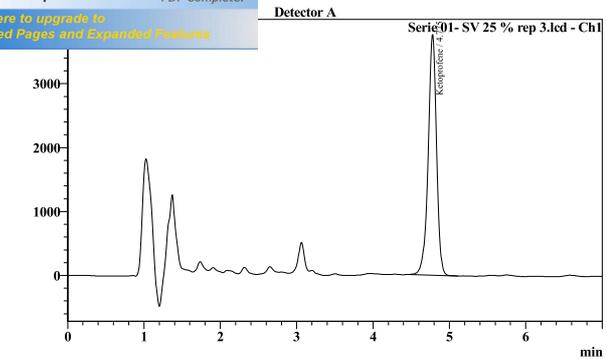


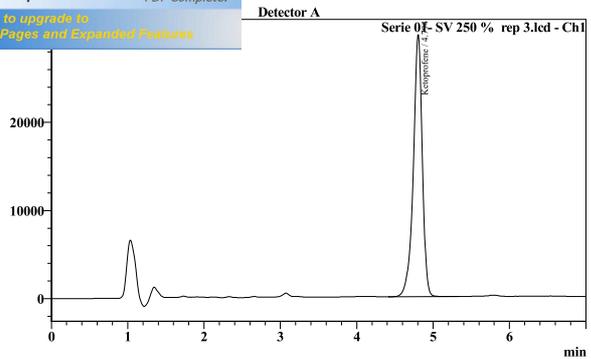
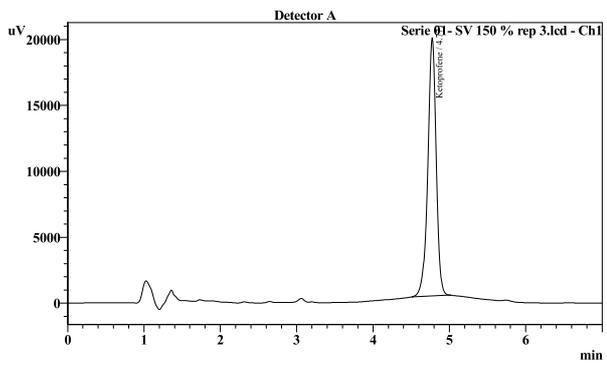
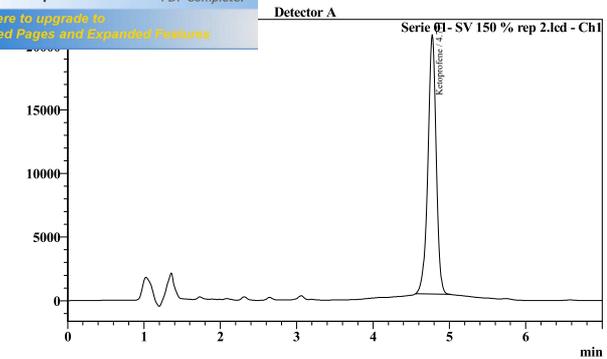


<< Detector A >>

Title	Sample Name	Sample ID	Ketoprofène
Serie 01-SE 25% rep 1.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 25	30115
Serie 01-SE 25% rep 2.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 25	30950
Serie 01-SE 50% rep 1.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 50	56684
Serie 01-SE 50% rep 2.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 50	56246
Serie 01-SE 100% rep 1.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 10	106612
Serie 01-SE 100% rep 2.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 10	106934
Serie 01-SE 150% rep 1.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 15	159463
Serie 01-SE 150% rep 2.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 15	163189
Serie 01-SE 250% rep 1.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 25	268574
Serie 01-SE 250% rep 2.lcd	kétoprofène	Serie 01-SE 25	267365

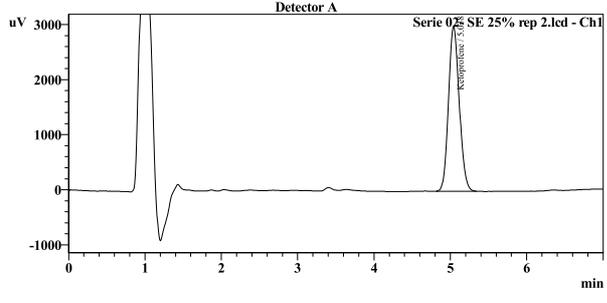
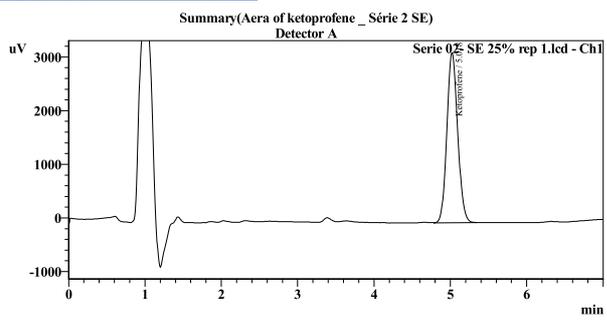
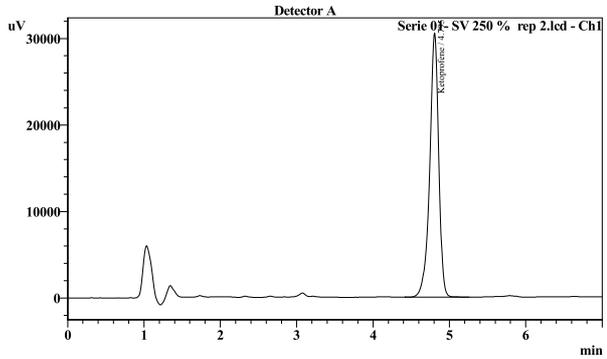
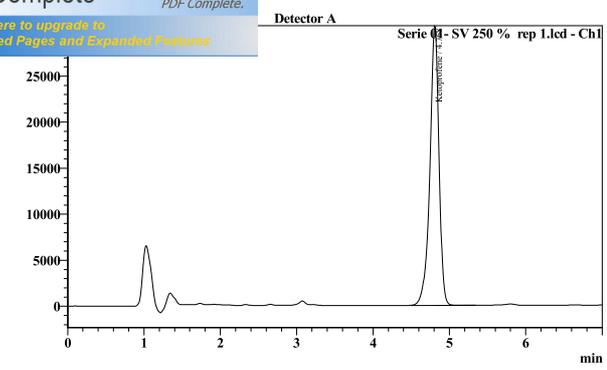


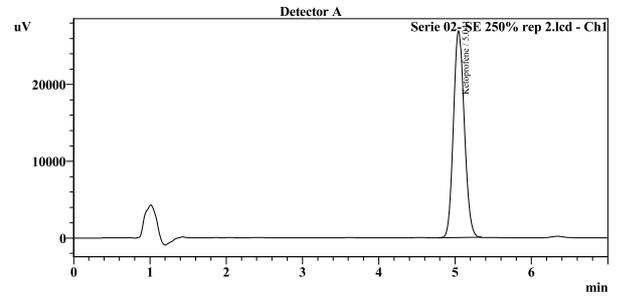
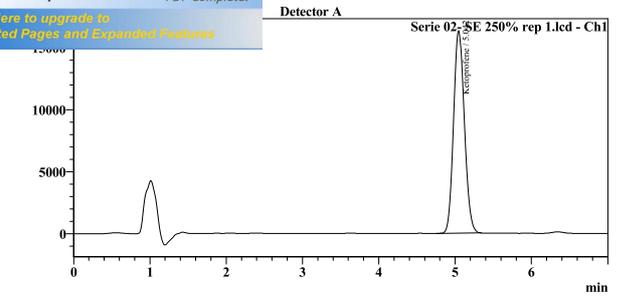
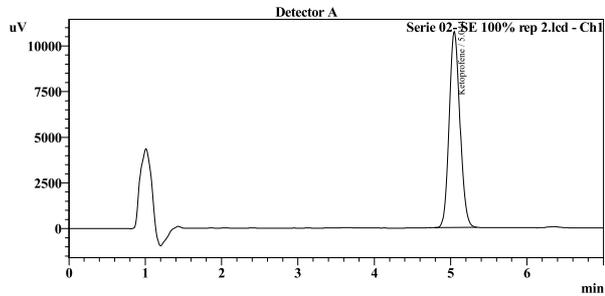
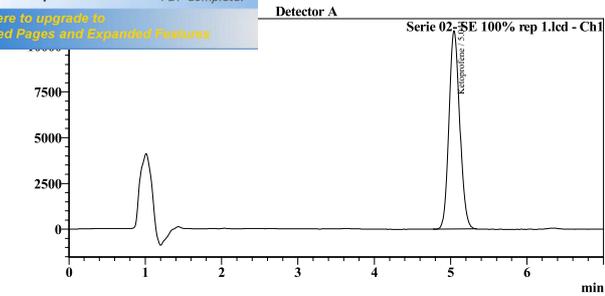
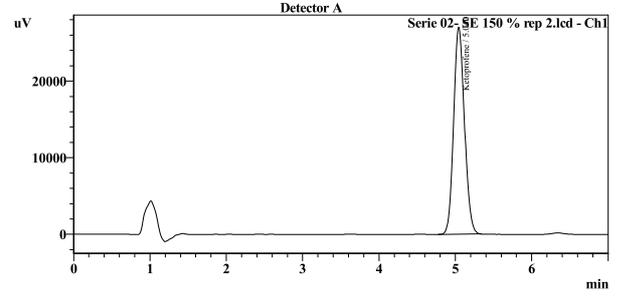
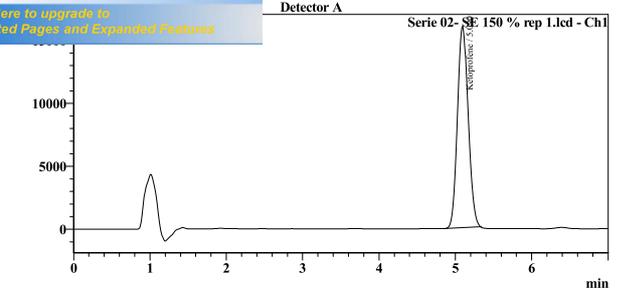
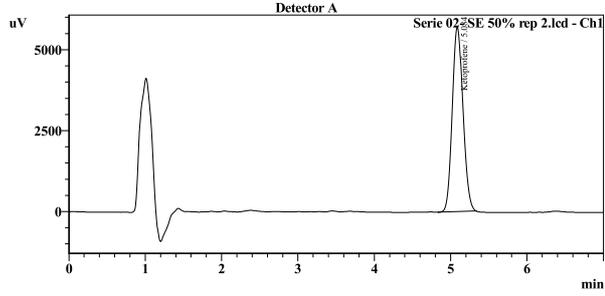
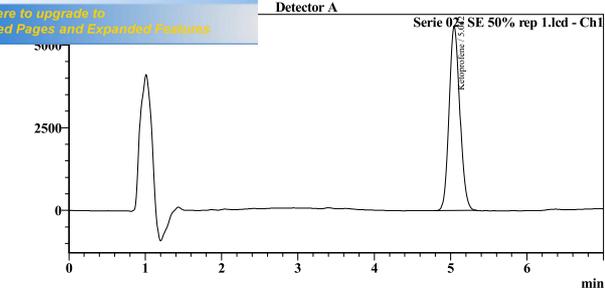




<< Detector A >>

Title	Sample Name	Sample ID	Ketoprofene
Serie 01- SV 25 % rep 1.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 25	28405
Serie 01- SV 25 % rep 2.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 25	28554
Serie 01- SV 25 % rep 3.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 25	28888
Serie 01- SV 50 % rep 1.lcd	kétoprofene	Serie 03- SV 50	57050
Serie 01- SV 50 % rep 2.lcd	kétoprofene	Serie 03- SV 50	54370
Serie 01- SV 50 % rep 3.lcd	kétoprofene	Serie 03- SV 50	56792
Serie 01- SV 100 % rep 1.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 10	108298
Serie 01- SV 100 % rep 2.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 10	103778
Serie 01- SV 100 % rep 3.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 10	100034
Serie 01- SV 150 % rep 1.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 15	161738
Serie 01- SV 150 % rep 2.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 15	155029
Serie 01- SV 150 % rep 3.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 15	150457
Serie 01- SV 250 % rep 1.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 25	253396
Serie 01- SV 250 % rep 2.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 25	251403
Serie 01- SV 250 % rep 3.lcd	kétoprofene	Serie 01- SV 25	244857

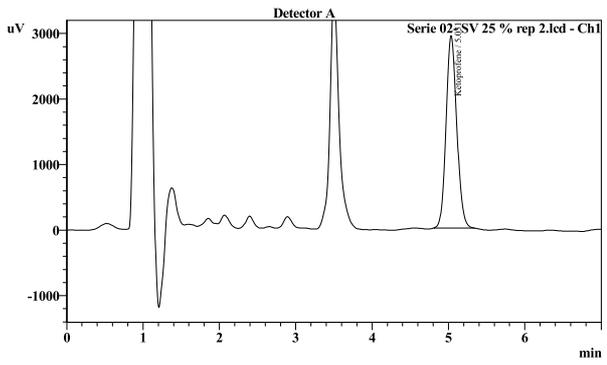
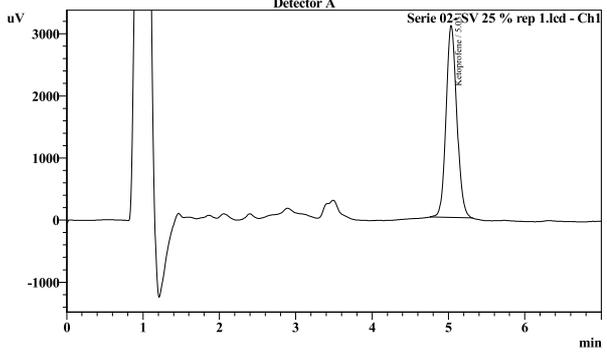




<< Detector A >>

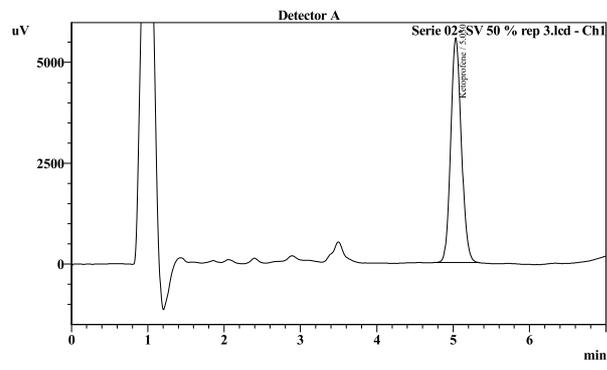
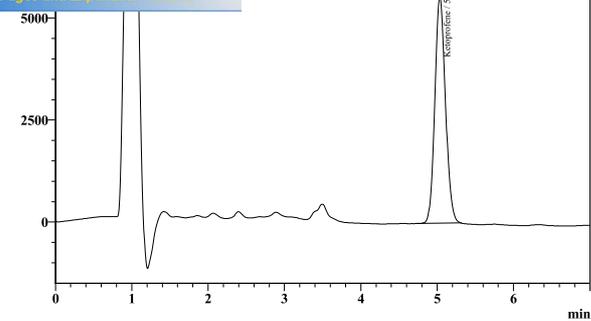
Title	Sample Name	Ketoprofène
Serie 02- SE 25% rep 1.lcd	kétoprofène	31214
Serie 02- SE 25% rep 2.lcd	kétoprofène	29408
Serie 02- SE 50% rep 1.lcd	kétoprofène	54844
Serie 02- SE 50% rep 2.lcd	kétoprofène	55699
Serie 02- SE 100% rep 1.lcd	kétoprofène	106595
Serie 02- SE 100% rep 2.lcd	kétoprofène	105658
Serie 02- SE 150 % rep 1.lcd	kétoprofène	156674
Serie 02- SE 150 % rep 2.lcd	kétoprofène	267325
Serie 02- SE 250% rep 1.lcd	kétoprofène	160339
Serie 02- SE 250% rep 2.lcd	kétoprofène	266269

Serie 02-SV 25 % rep 1.lcd - Ch1



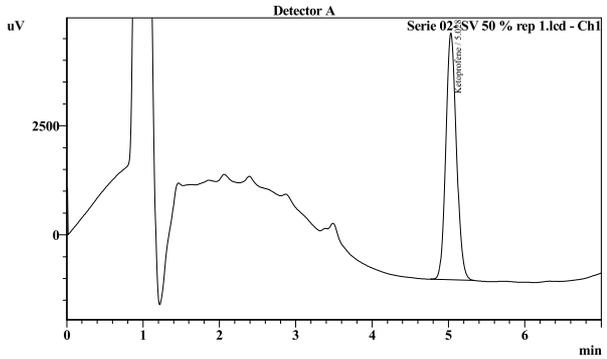
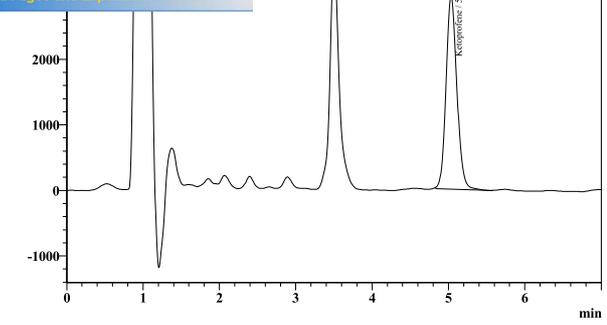
Detector A

Serie 02-SV 50 % rep 2.lcd - Ch1



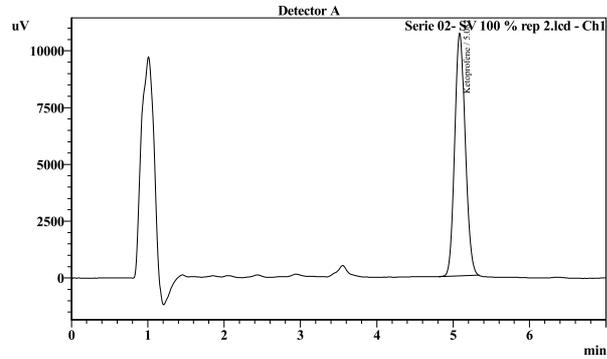
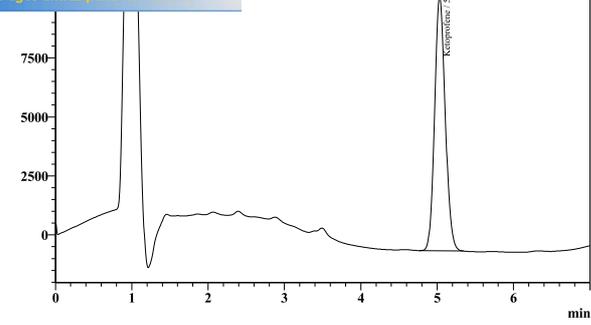
Detector A

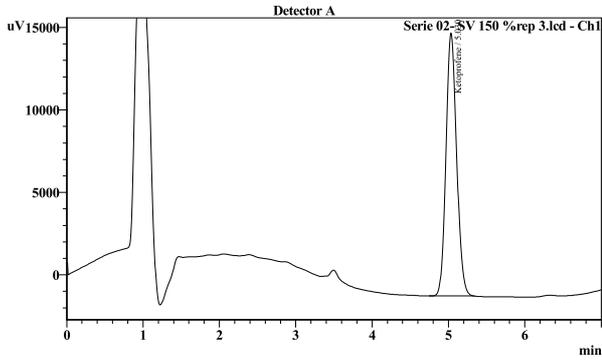
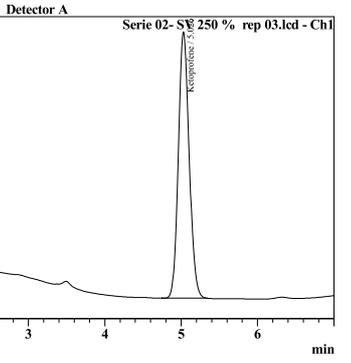
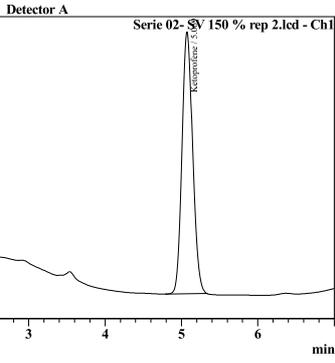
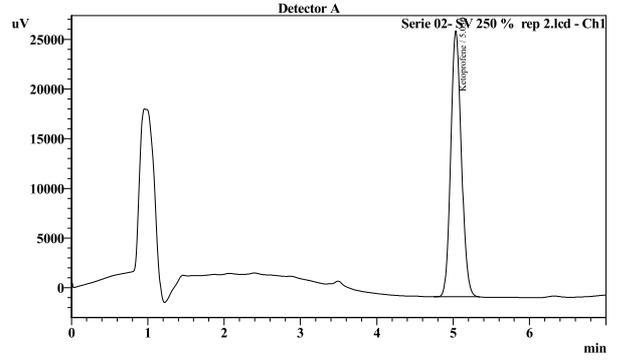
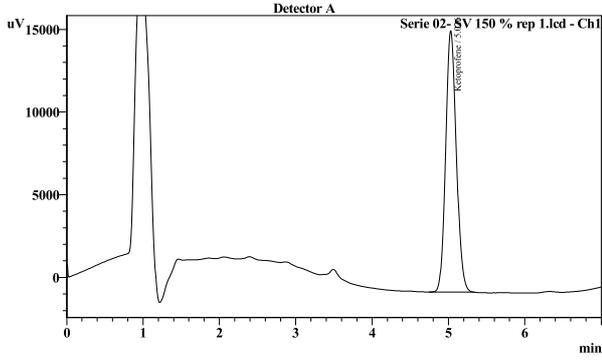
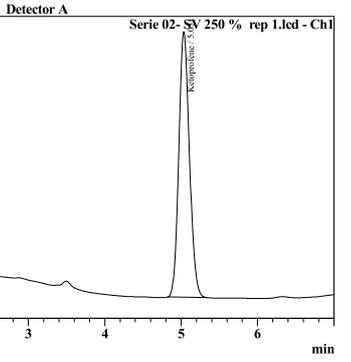
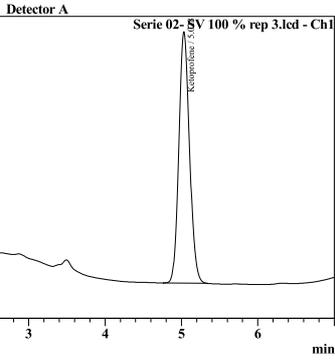
Serie 02-SV 25 % rep 3.lcd - Ch1



Detector A

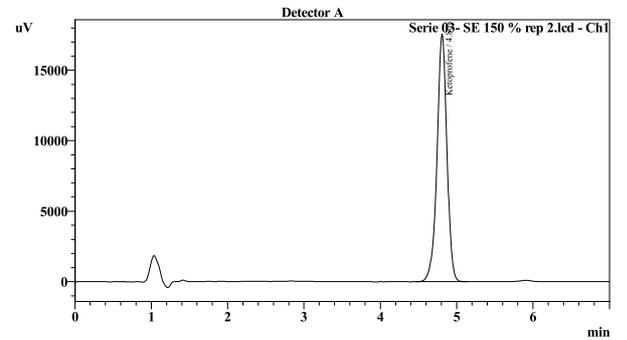
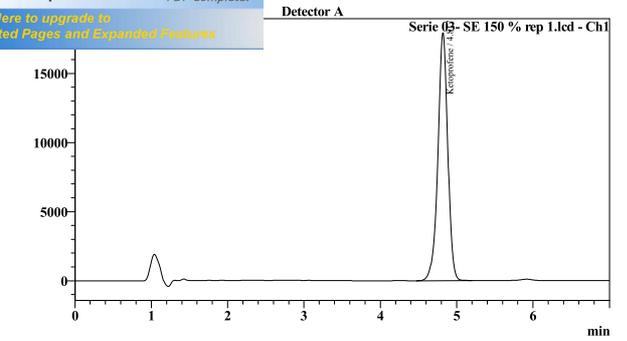
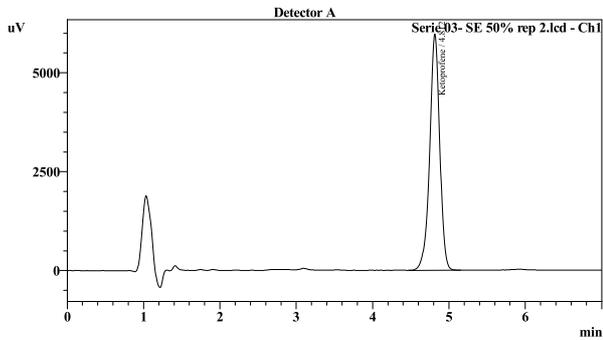
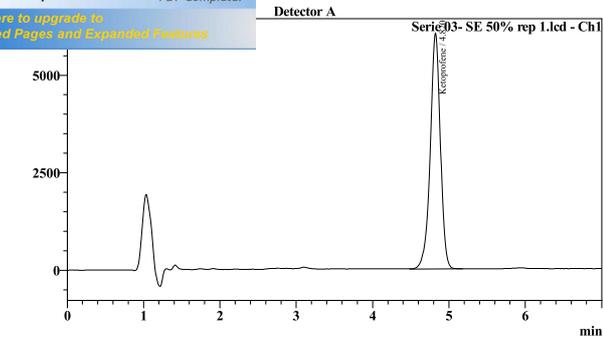
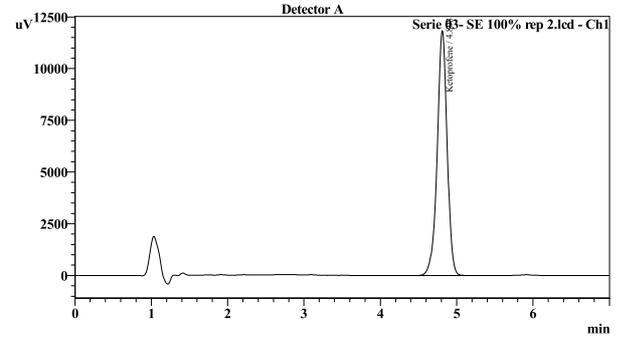
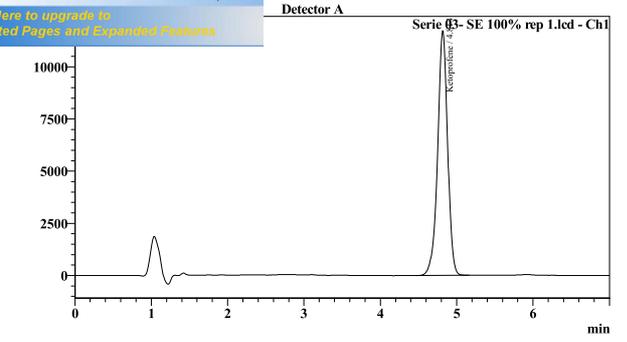
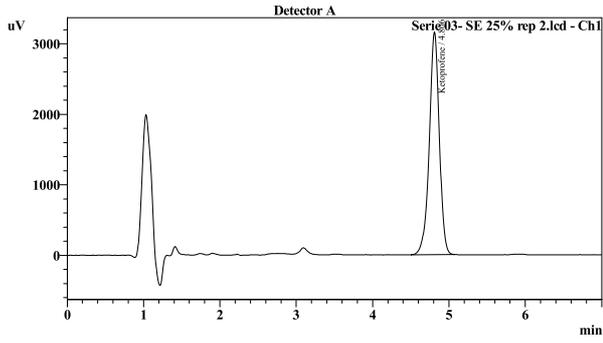
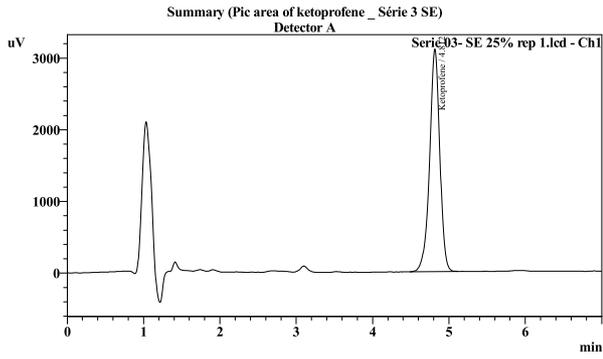
Serie 02-SV 100 % rep 1.lcd - Ch1

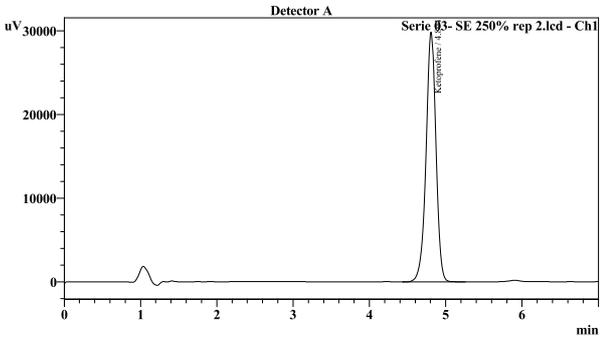
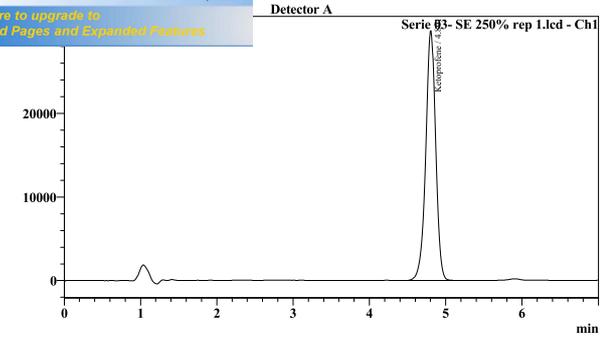




<< Detector A >>

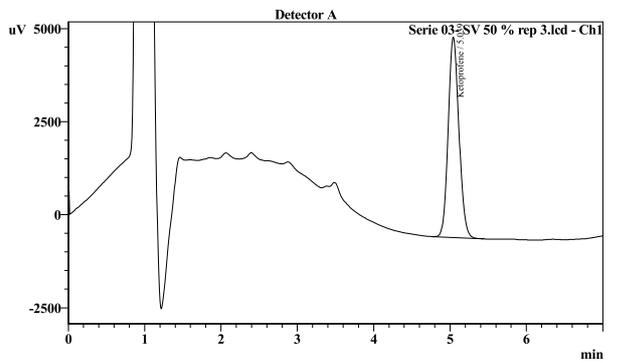
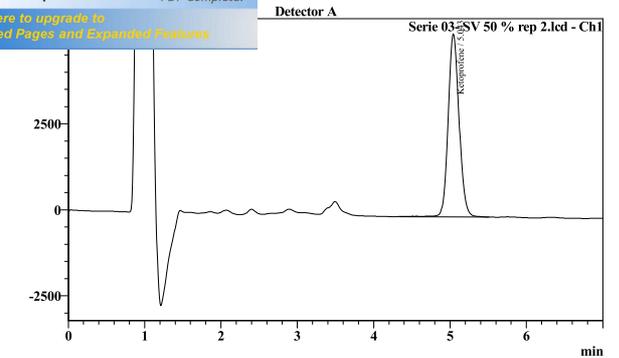
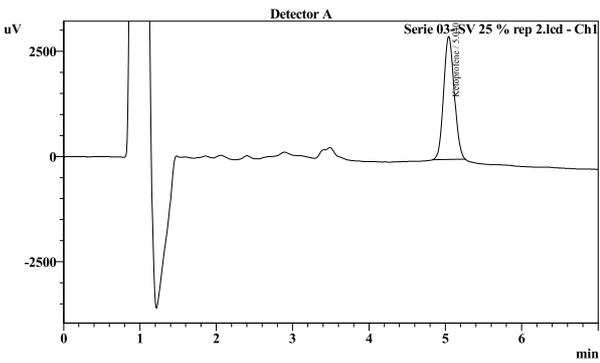
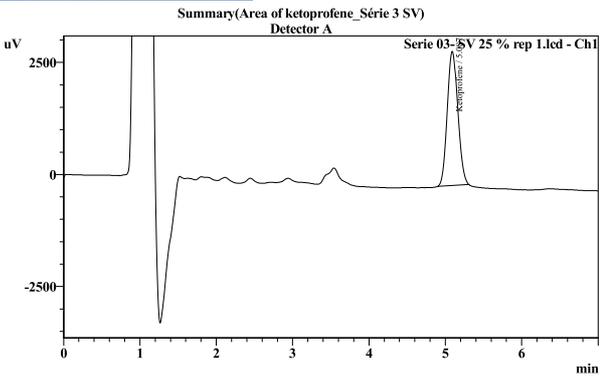
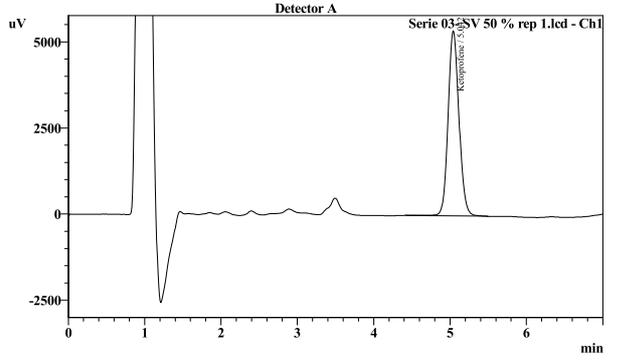
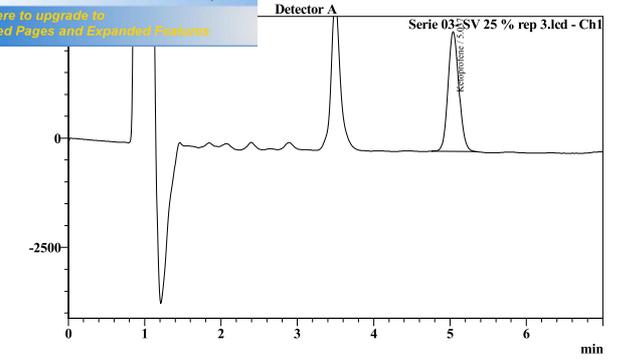
Title	Sample Name	Ketoprofene
Serie 02-SV 25 % rep 1.lcd	kétoprofene	30412
Serie 02-SV 25 % rep 2.lcd	kétoprofene	28659
Serie 02-SV 25 % rep 3.lcd	kétoprofene	29104
Serie 02-SV 50 % rep 1.lcd	kétoprofene	54789
Serie 02-SV 50 % rep 2.lcd	kétoprofene	53815
Serie 02-SV 50 % rep 3.lcd	kétoprofene	54212
Serie 02-SV 100 % rep 1.lcd	kétoprofene	104746
Serie 02-SV 100 % rep 2.lcd	kétoprofene	102888
Serie 02-SV 100 % rep 3.lcd	kétoprofene	102213
Serie 02-SV 150 % rep 1.lcd	kétoprofene	153828
Serie 02-SV 150 % rep 2.lcd	kétoprofene	153371
Serie 02-SV 150 % rep 3.lcd	kétoprofene	155213
Serie 02-SV 250 % rep 1.lcd	kétoprofene	268976
Serie 02-SV 250 % rep 2.lcd	kétoprofene	260396
Serie 02-SV 250 % rep 03.lcd	kétoprofene	252633

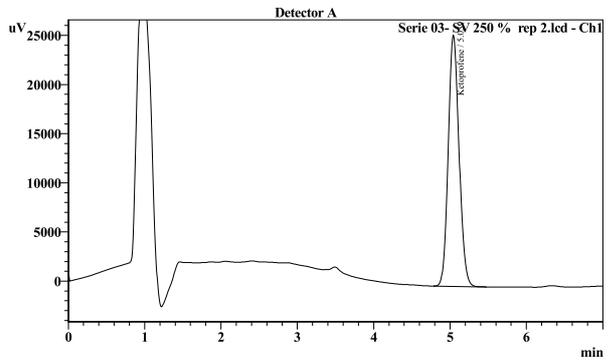
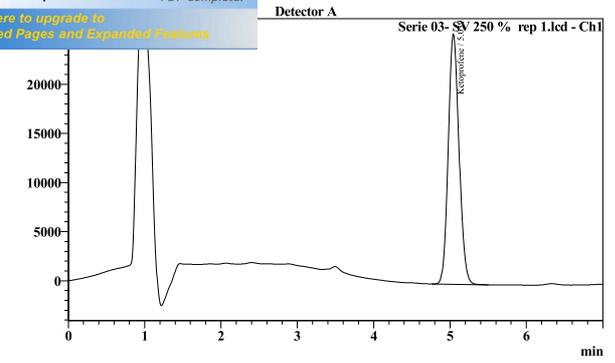
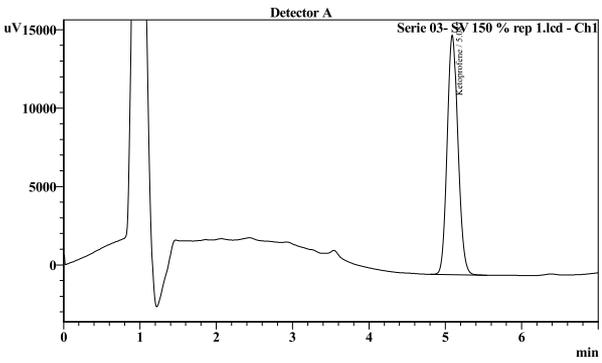
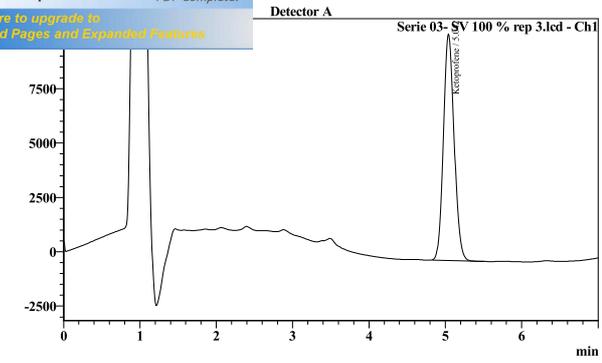
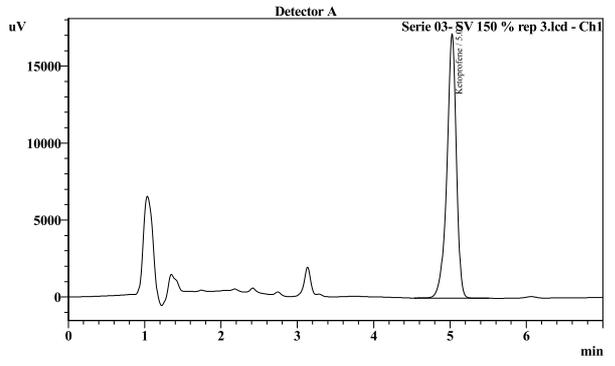
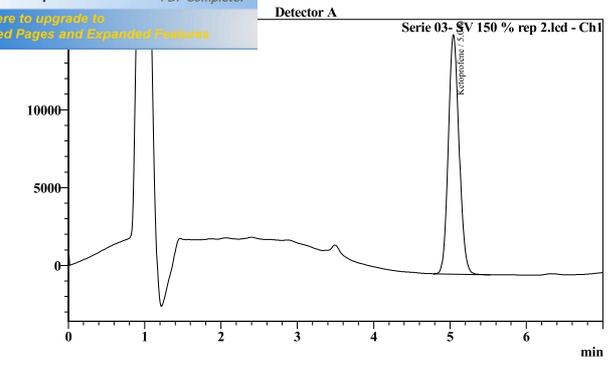
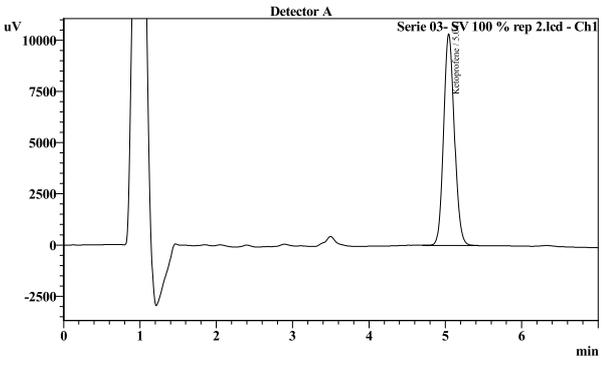
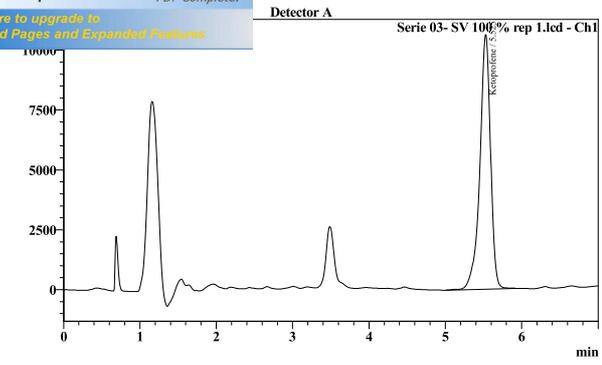


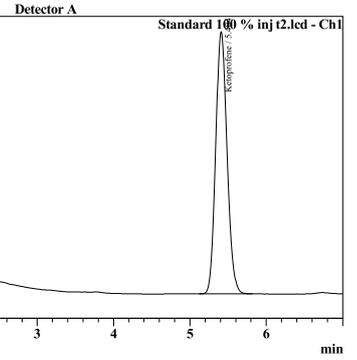
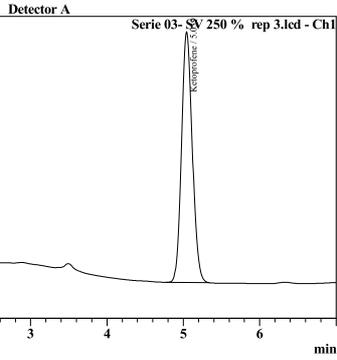


<< Detector A >>

Title	Sample Name	Ketoprofene
Serie 03- SE 25% rep 1.lcd	kétoprofene	28869
Serie 03- SE 25% rep 2.lcd	kétoprofene	28890
Serie 03- SE 50% rep 1.lcd	kétoprofene	55814
Serie 03- SE 50% rep 2.lcd	kétoprofene	54700
Serie 03- SE 100% rep 1.lcd	kétoprofene	106675
Serie 03- SE 100% rep 2.lcd	kétoprofene	107521
Serie 03- SE 150 % rep 1.lcd	kétoprofene	161558
Serie 03- SE 150 % rep 2.lcd	kétoprofene	159445
Serie 03- SE 250% rep 1.lcd	kétoprofene	268931
Serie 03- SE 250% rep 2.lcd	kétoprofene	267938

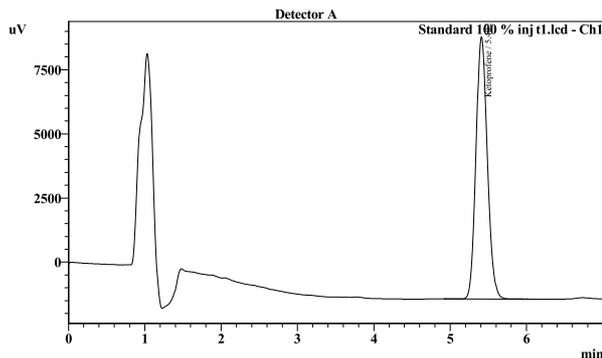
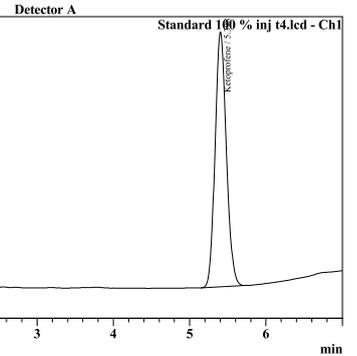
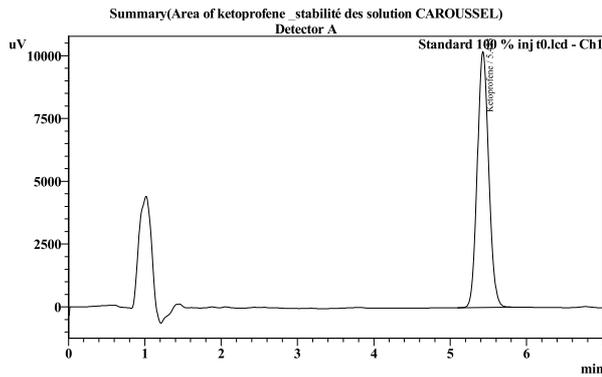
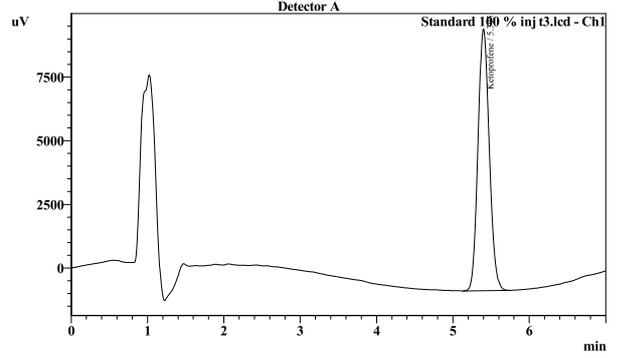






<< Detector A >>

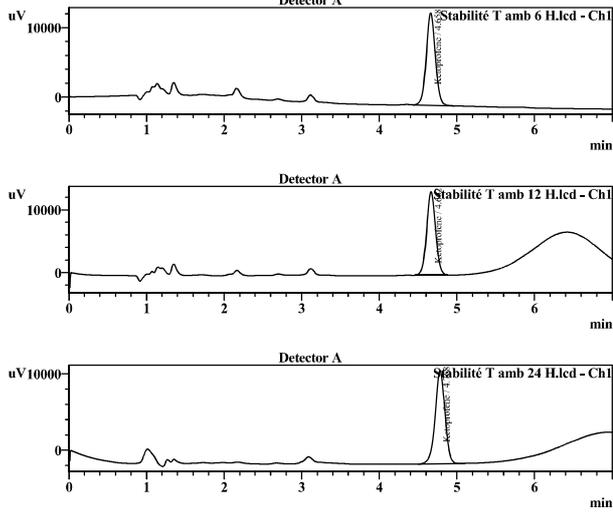
Title	Sample Name	Ketoprofene
Serie 03- SV 25 % rep 1.lcd	kétoprofene	28811
Serie 03- SV 25 % rep 2.lcd	kétoprofene	28436
Serie 03- SV 25 % rep 3.lcd	kétoprofene	27188
Serie 03- SV 50 % rep 1.lcd	kétoprofene	53457
Serie 03- SV 50 % rep 2.lcd	kétoprofene	53086
Serie 03- SV 50 % rep 3.lcd	kétoprofene	52898
Serie 03- SV 100 % rep 1.lcd	kétoprofene	103479
Serie 03- SV 100 % rep 2.lcd	kétoprofene	102059
Serie 03- SV 100 % rep 3.lcd	kétoprofene	101910
Serie 03- SV 150 % rep 1.lcd	kétoprofene	150742
Serie 03- SV 150 % rep 2.lcd	kétoprofene	151582
Serie 03- SV 150 % rep 3.lcd	kétoprofene	149255
Serie 03- SV 250 % rep 1.lcd	kétoprofene	251596
Serie 03- SV 250 % rep 2.lcd	kétoprofene	252603
Serie 03- SV 250 % rep 3.lcd	kétoprofene	262208



<< Detector A >>

Title	Sample Name	Sample ID	Ketoprofene
Standard 100 % inj t0.lcd	Ketprofene	Stabilité des sol	106272
Standard 100 % inj t1.lcd	Ketprofene	Stabilité des sol	106205
Standard 100 % inj t2.lcd	Ketprofene	Stabilité des sol	105923
Standard 100 % inj t3.lcd	Ketprofene	Stabilité des sol	105525
Standard 100 % inj t4.lcd	Ketprofene	Stabilité des sol	105868
Average			105959
%RSD			0.282
Maximum			106272
Minimum			105525
Standard Deviation			298

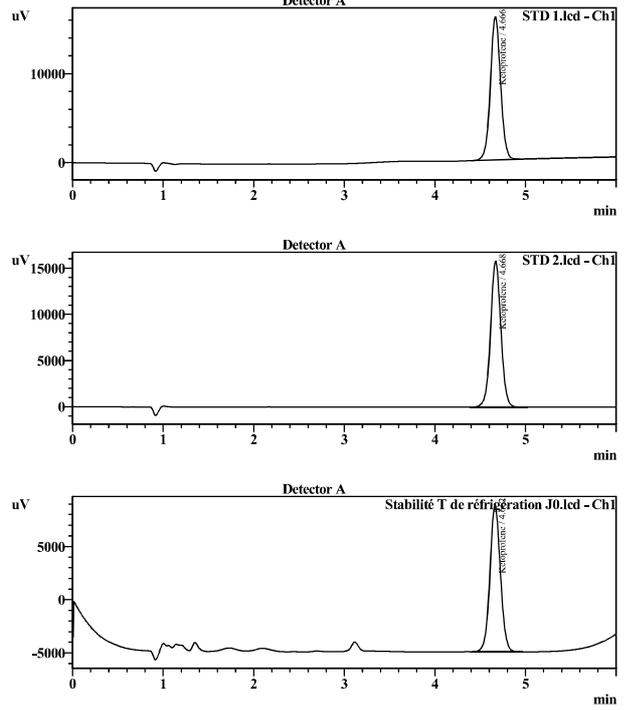
ketoprofene \_stabilité des solutions T ambiante)



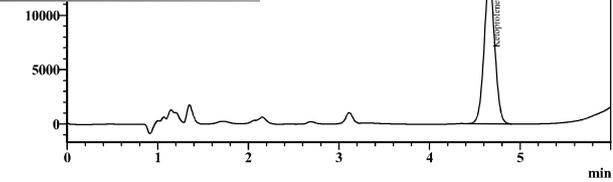
<< Detector A >>

Title	Sample Name	Ketoprofene
Stabilité T amb 6 H.lcd	kétoprofene	108506
Stabilité T amb 12 H.lcd	kétoprofene	107309
Stabilité T amb 24 H.lcd	kétoprofene	105750

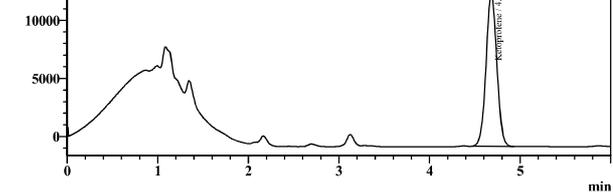
Summary(Area of ketoprofene \_stabilité des solutions T de réfrigération)



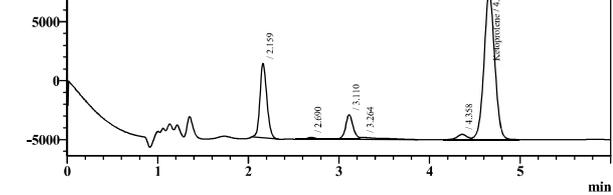
Stabilité T de réfrigération J 1.lcd - Ch1



Stabilité T de réfrigération J 3.lcd - Ch1



Stabilité T de réfrigération J 7.lcd - Ch1



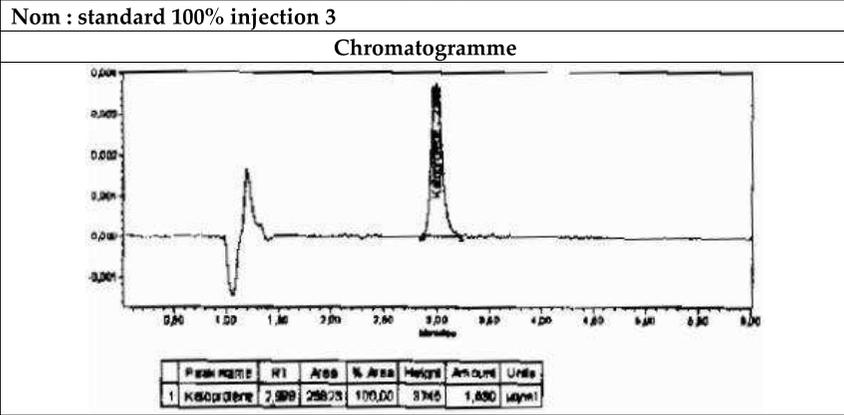
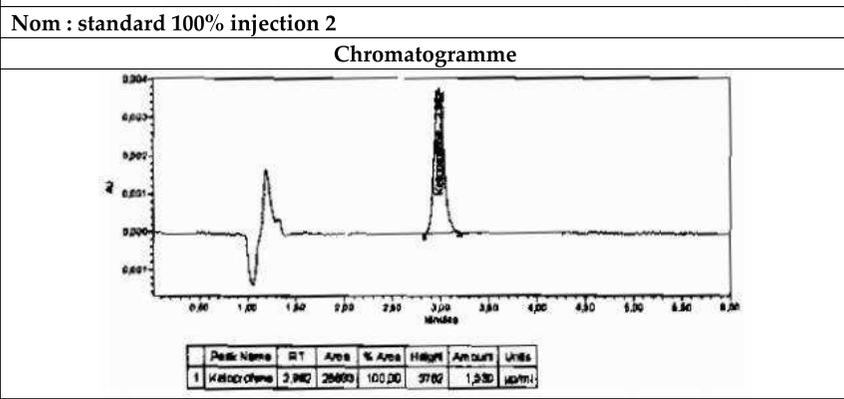
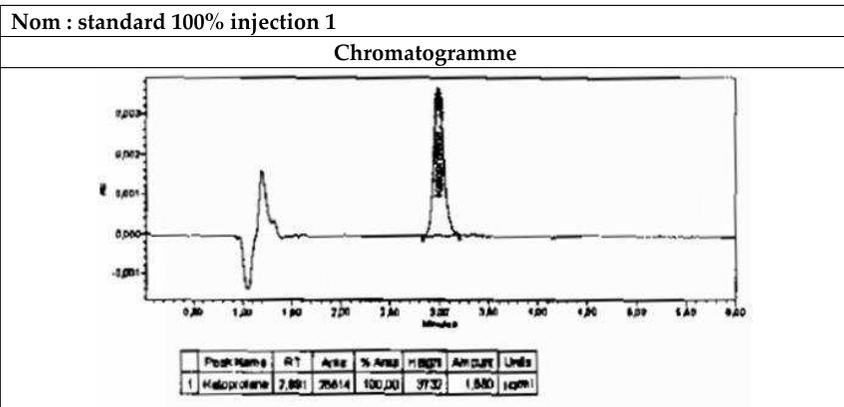
<< Detector A >>

Title	Sample Name	Ketoprofene
STD 1.lcd	kétoprofene	125318
STD 2.lcd	kétoprofene	124254
Stabilité T de réfrigération J0.lcd	kétoprofene	111009
Stabilité T de réfrigération J 1.lcd	kétoprofene	108226
Stabilité T de réfrigération J 3.lcd	kétoprofene	107914
Stabilité T de réfrigération J 7.lcd	kétoprofene	101812

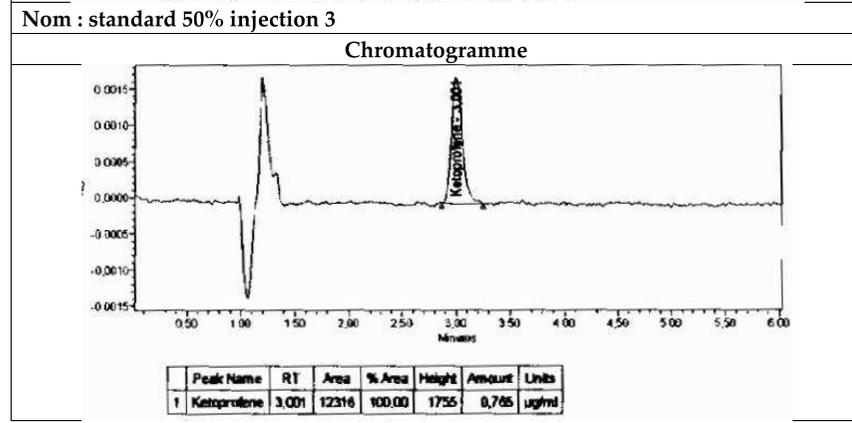
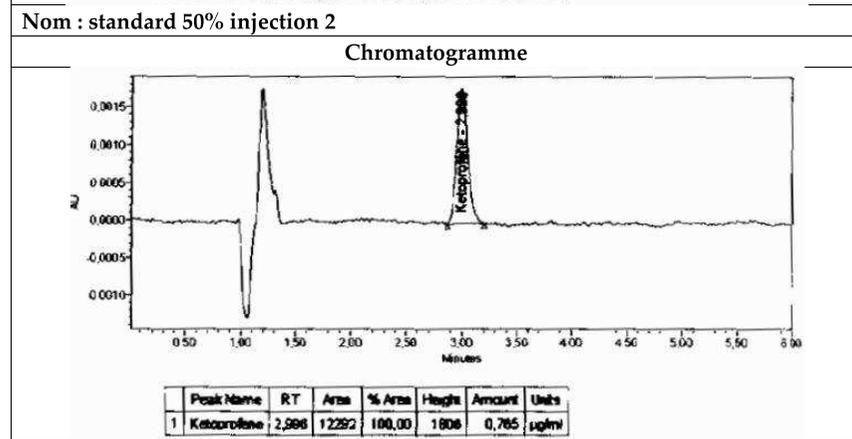
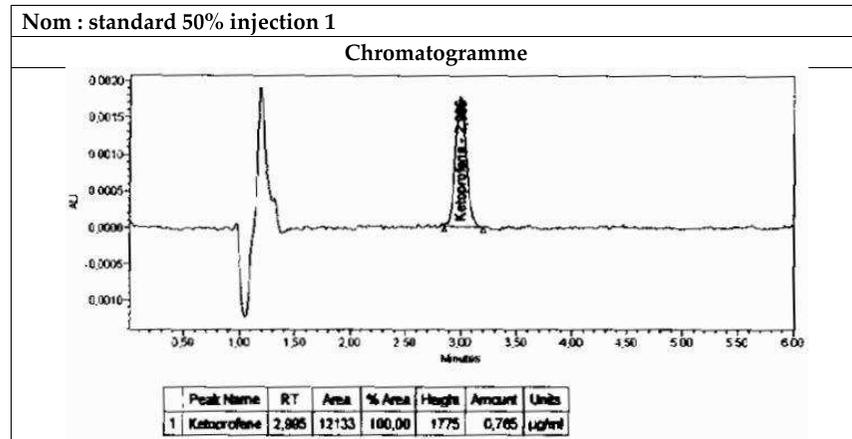
## **Annexe II**

**Données brutes (chromatogrammes) : Validation  
de nettoyage de la ligne crème et gel –**

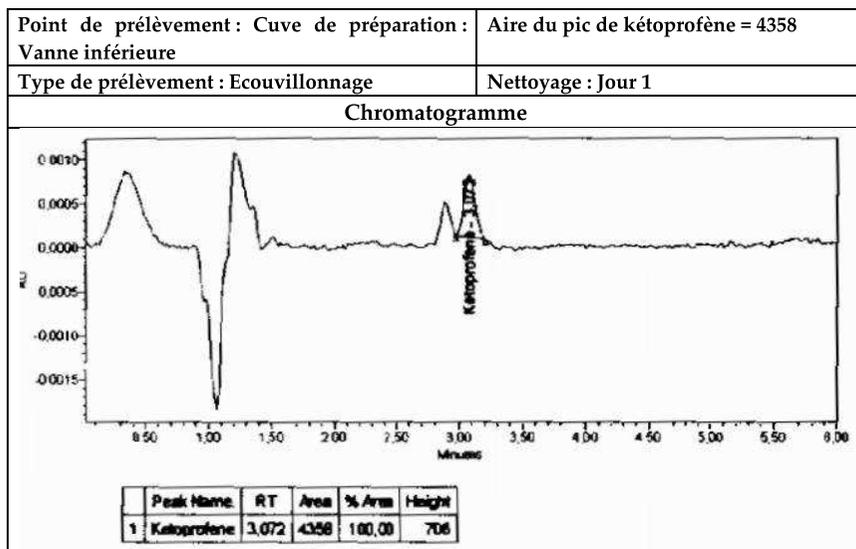
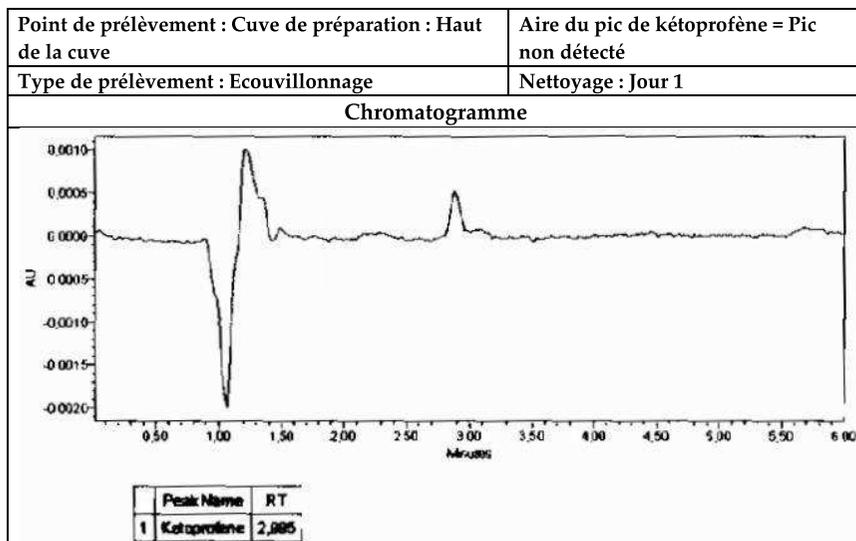
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour la gamme standard– Jour 1



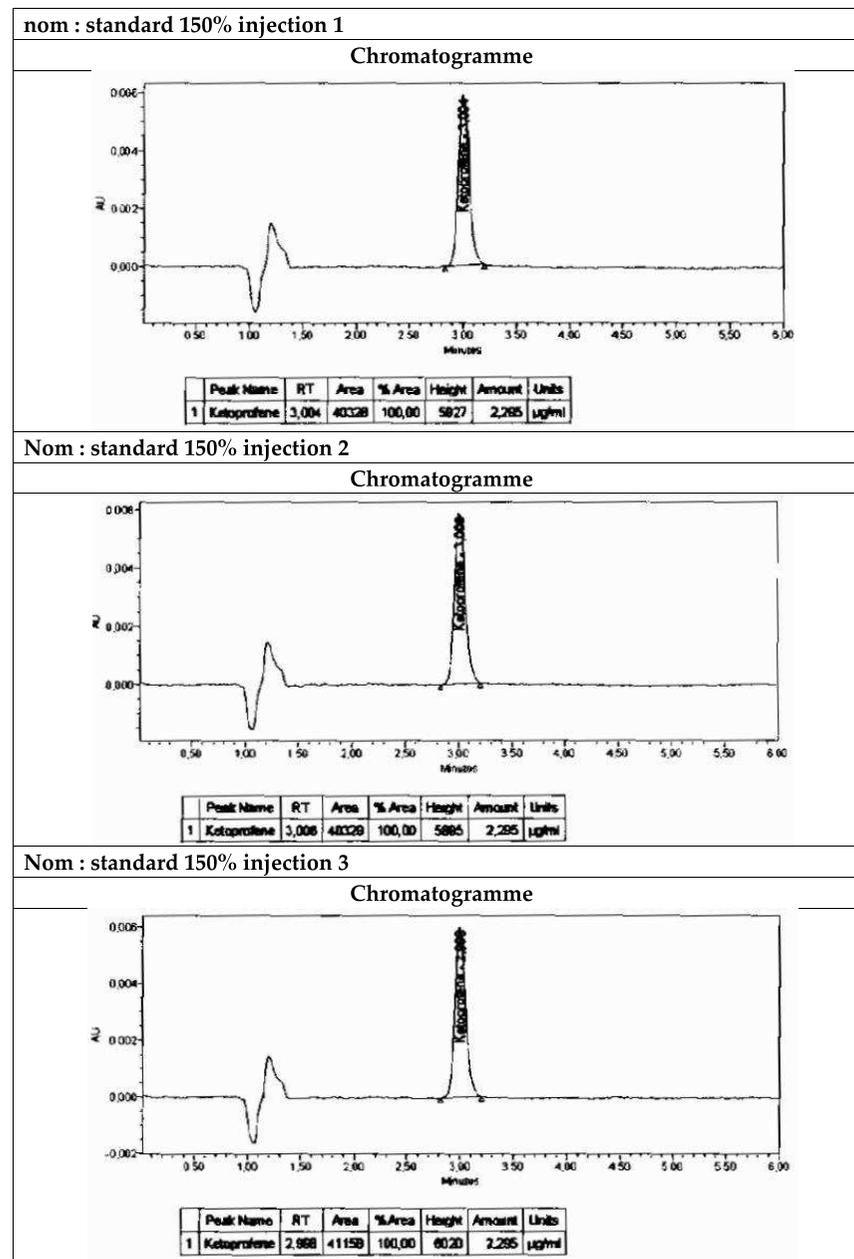
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour la gamme standard– Jour 1



Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 1

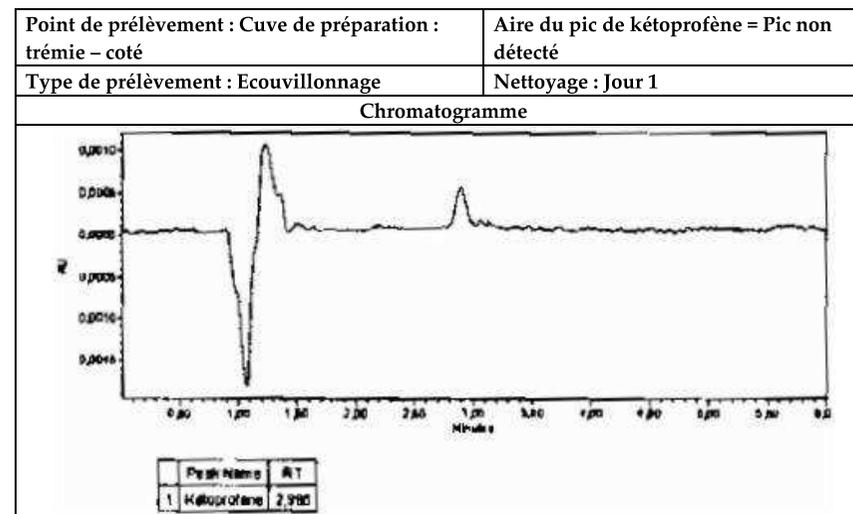
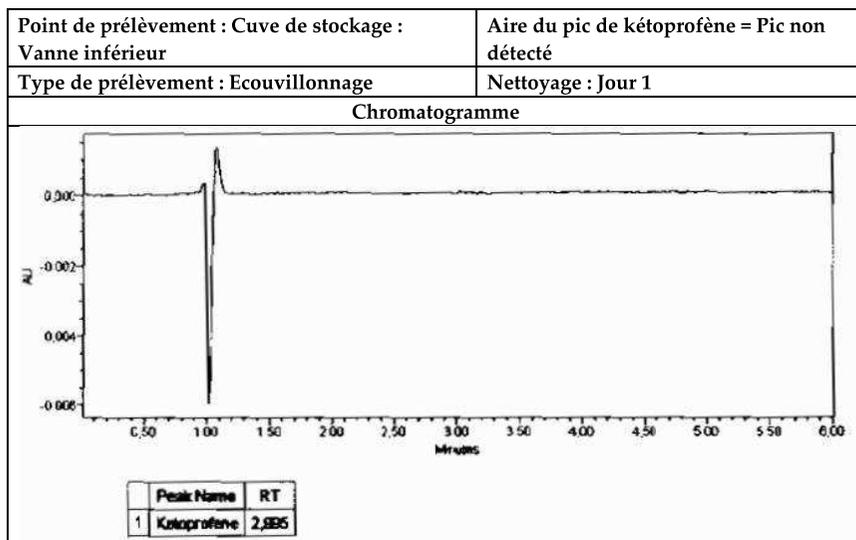
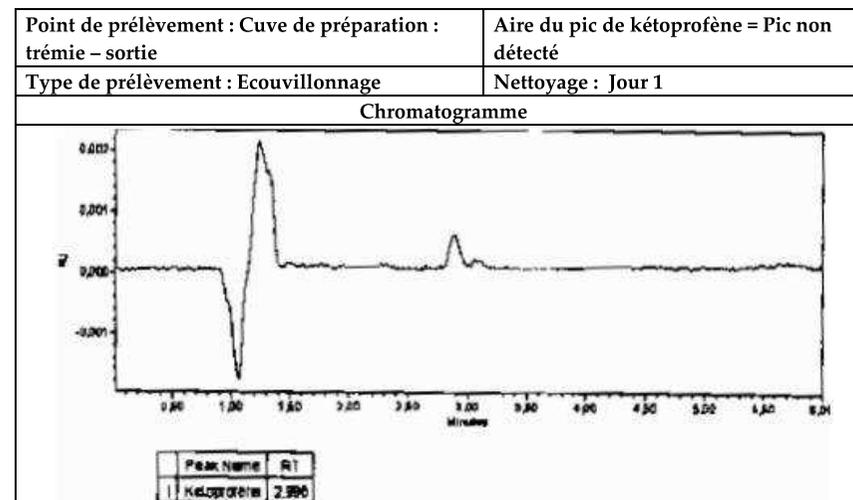
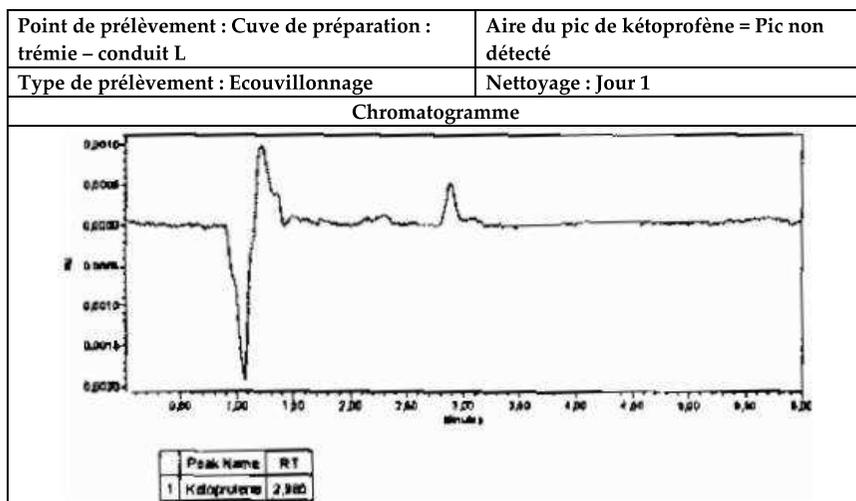


Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour la gamme standard – Jour 1

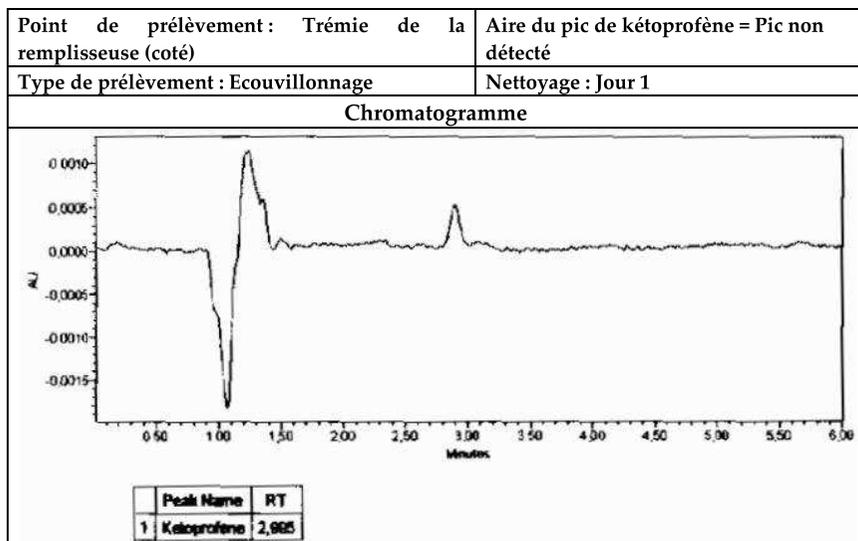
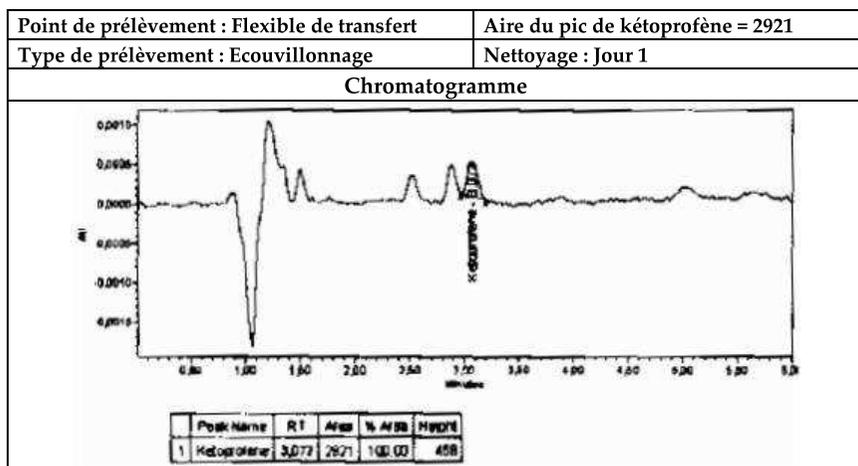


Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 1

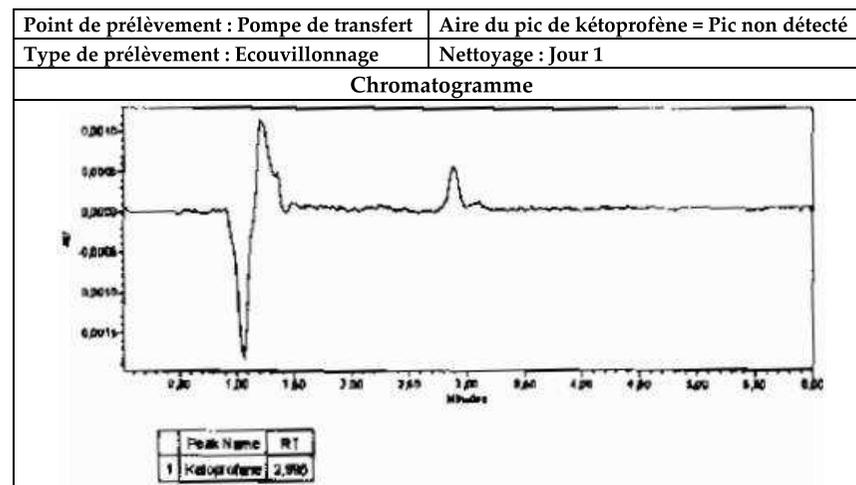
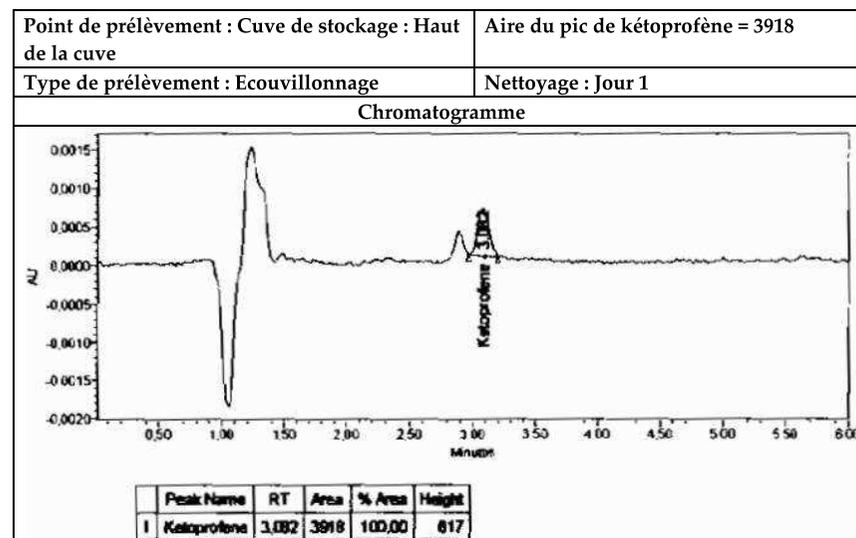
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 1



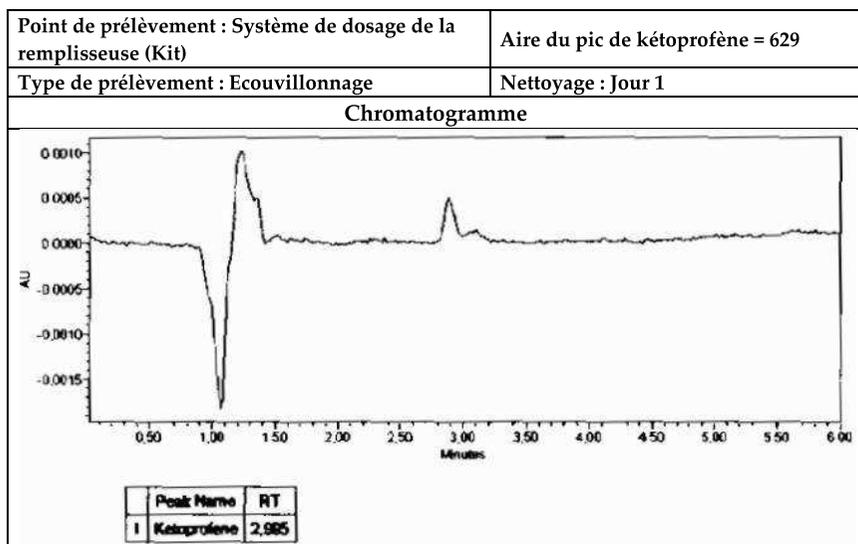
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 1



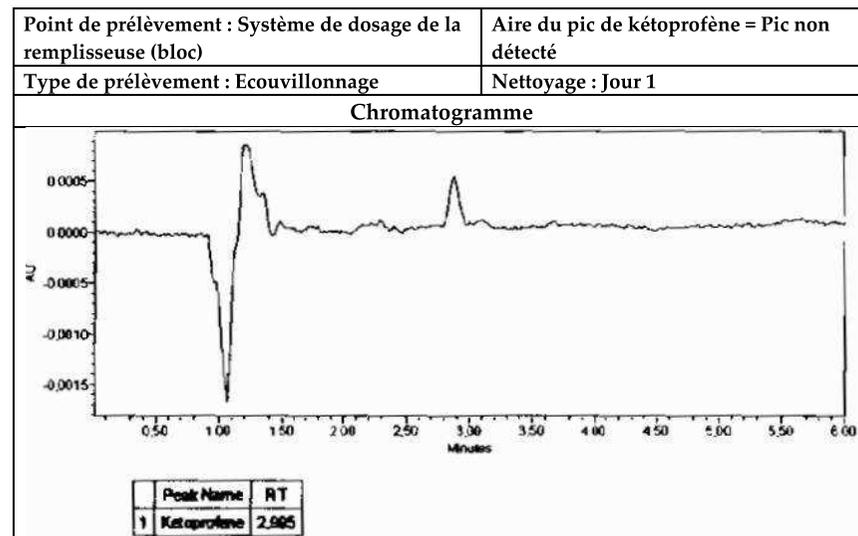
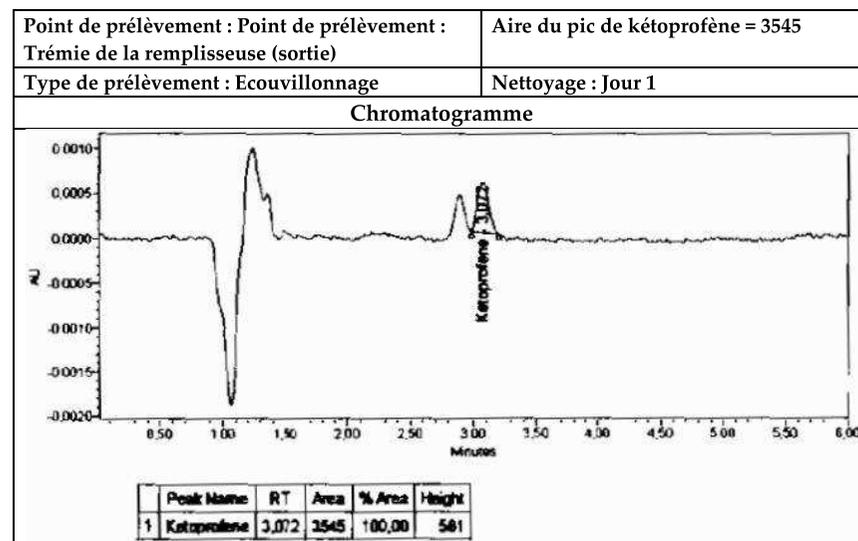
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 1



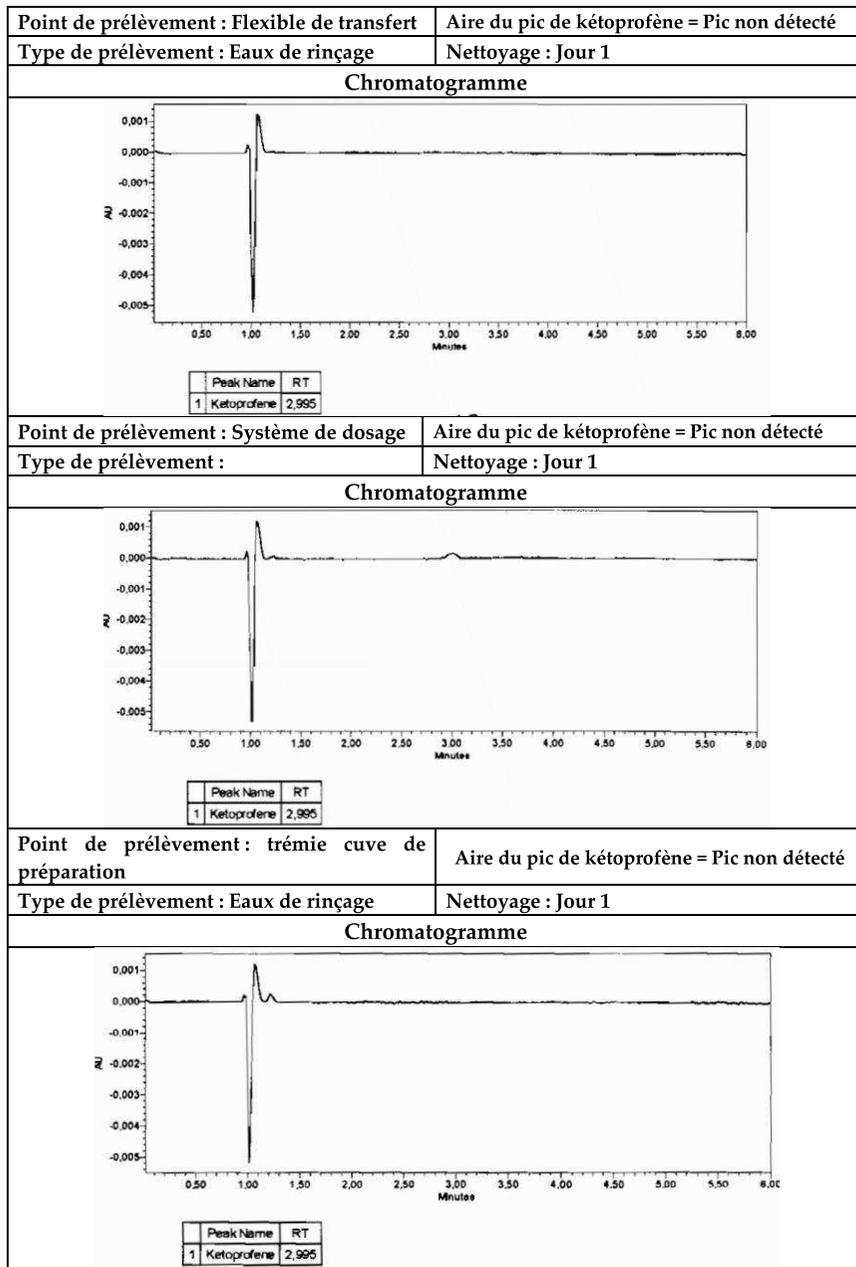
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 1



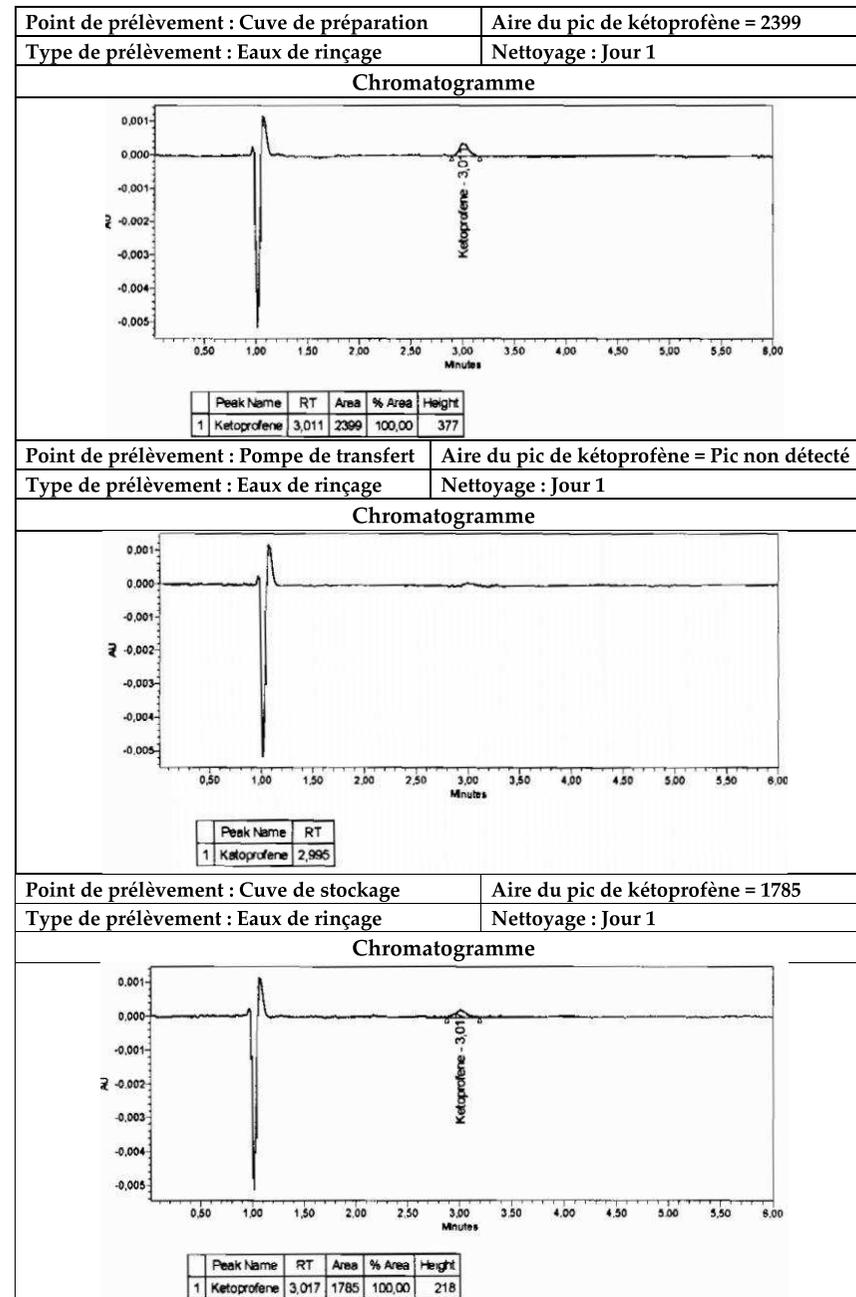
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 1



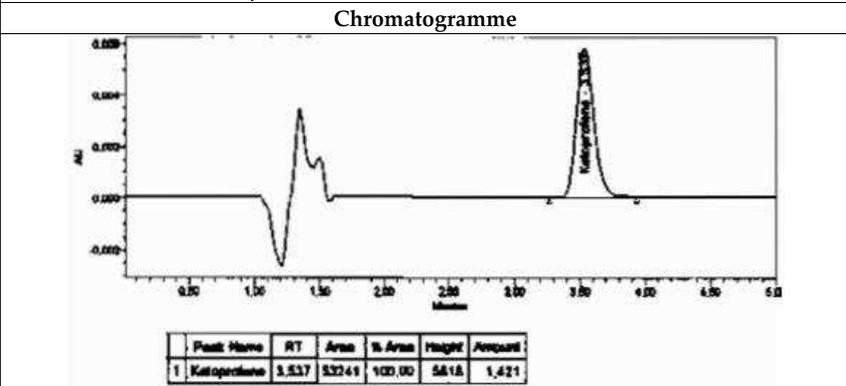
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenue pour le dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jour 1



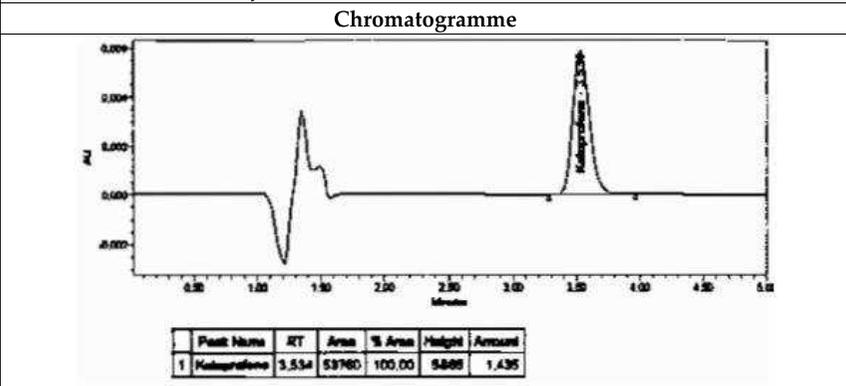
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenue pour le dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jour 1



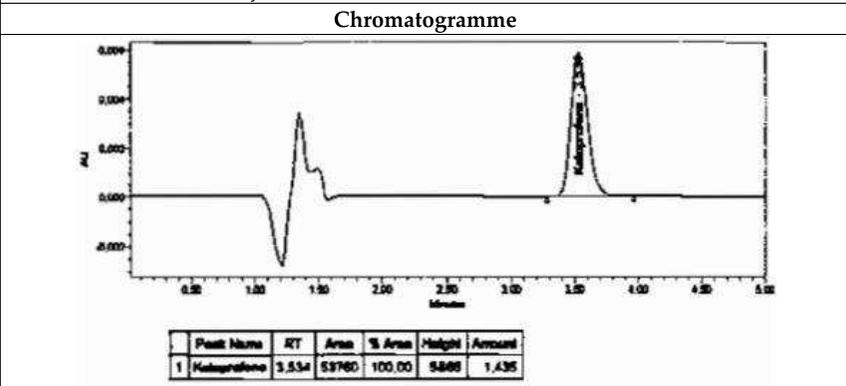
Nom : standard 100% injection 1



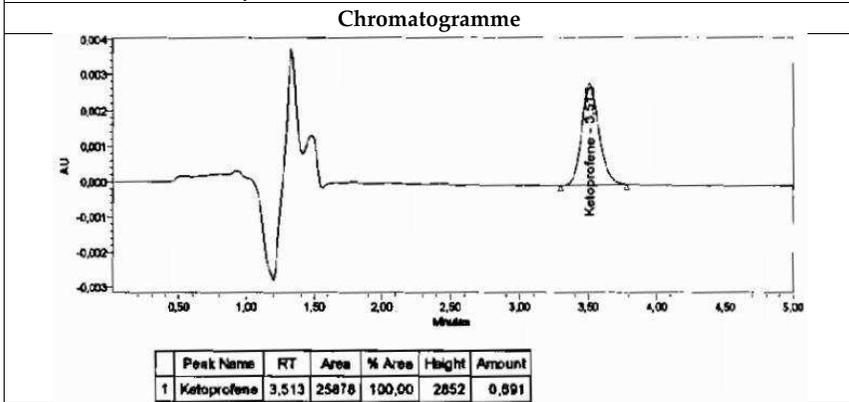
Nom : standard 100% injection 2



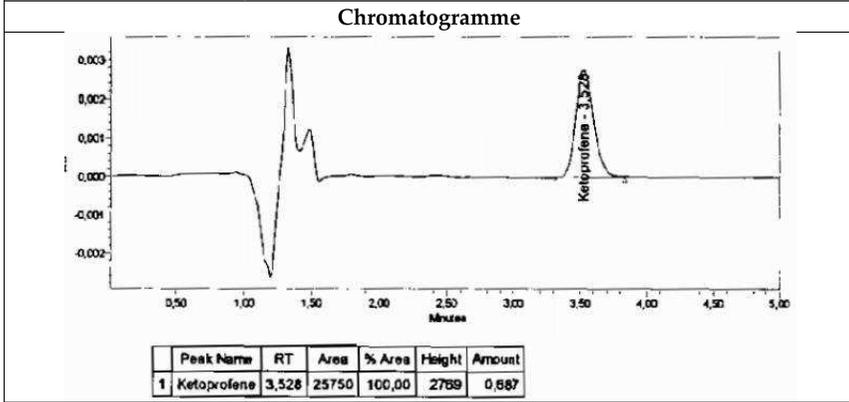
Nom : standard 100% injection 3



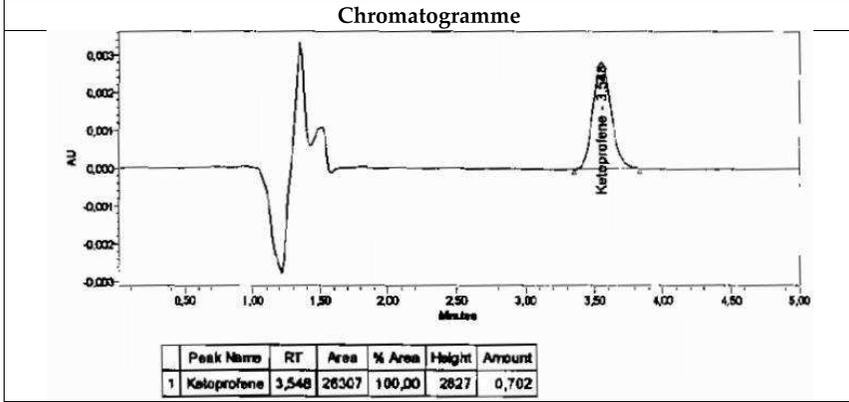
Nom : standard 50% injection 1



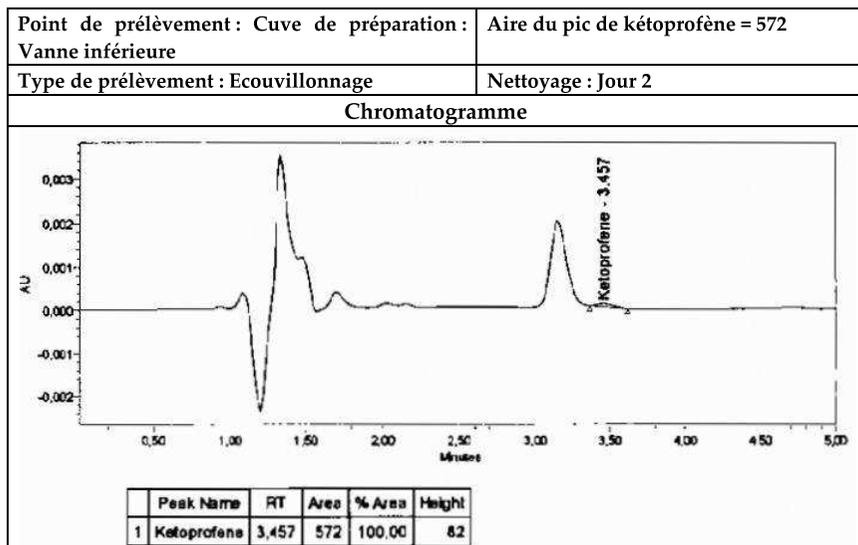
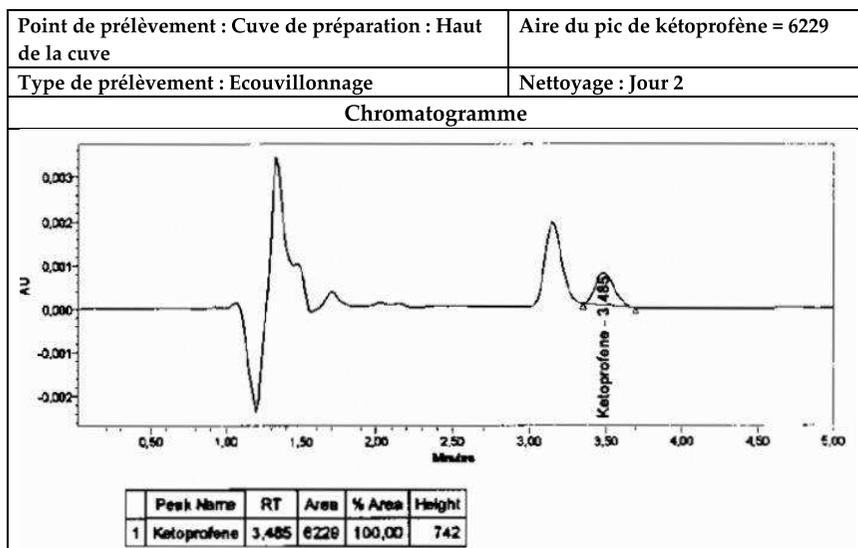
Nom : standard 50% injection 2



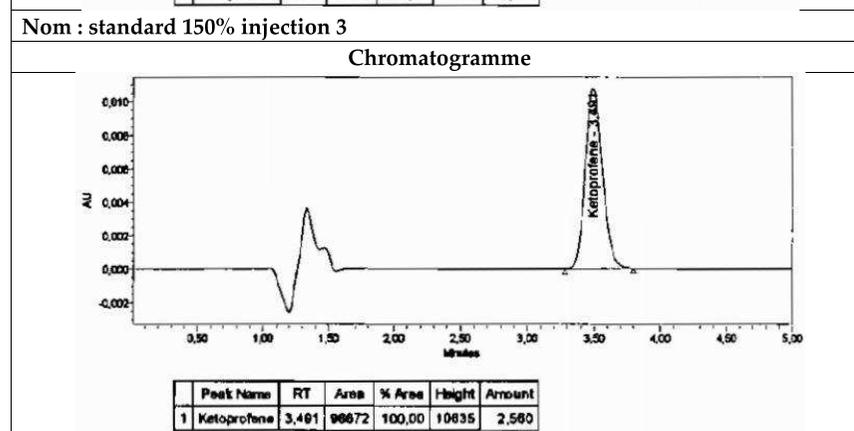
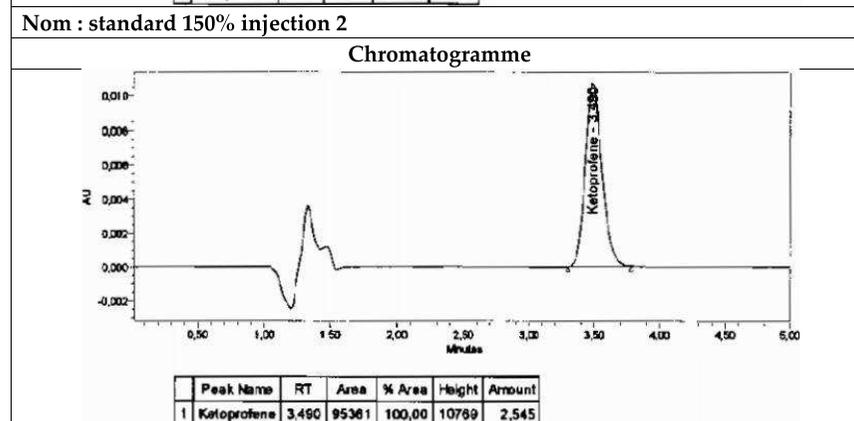
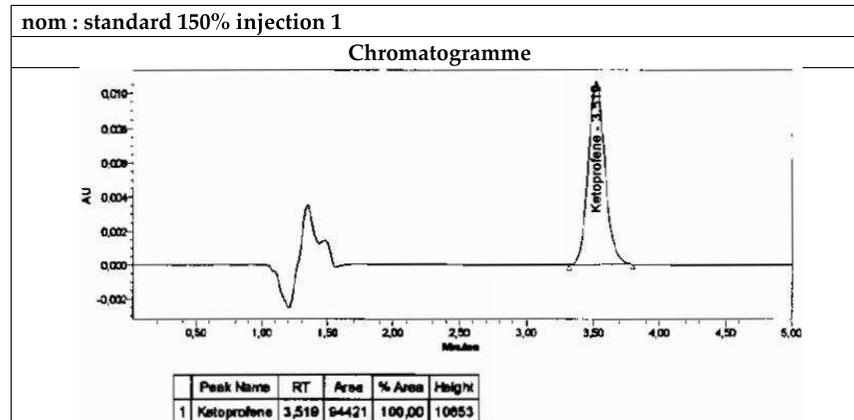
Nom : standard 50% injection 3



Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 2

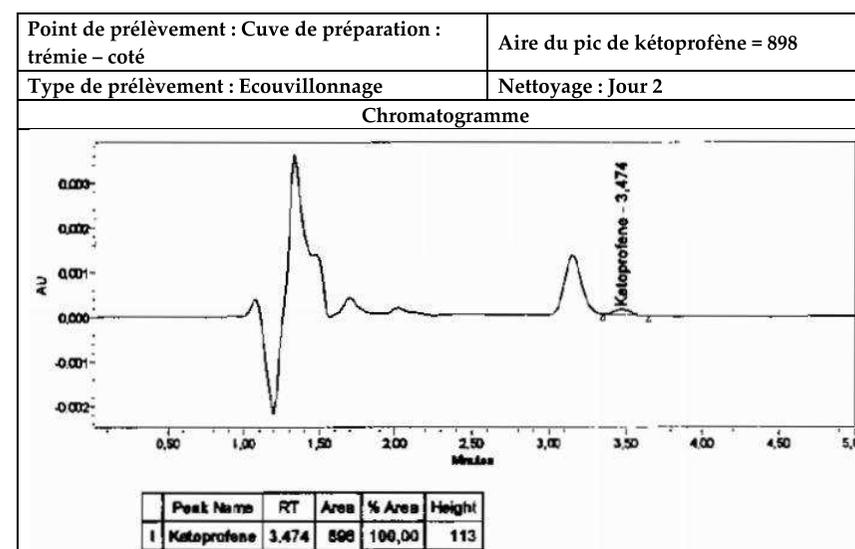
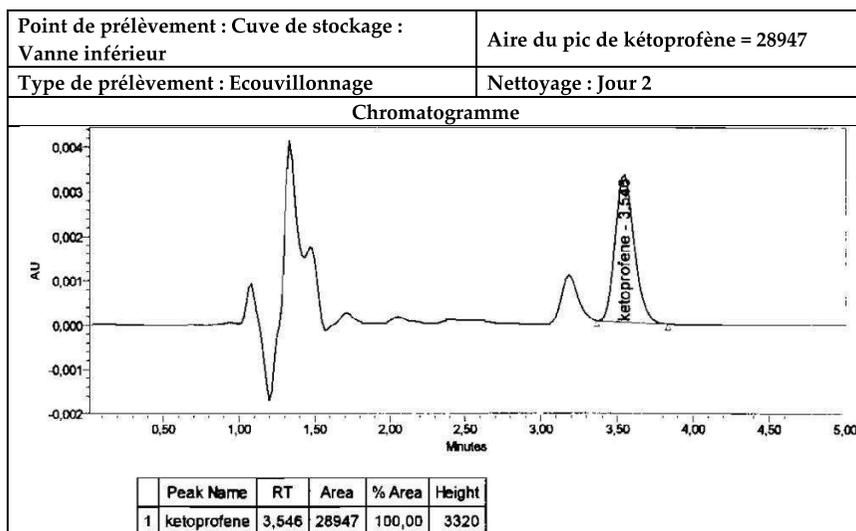
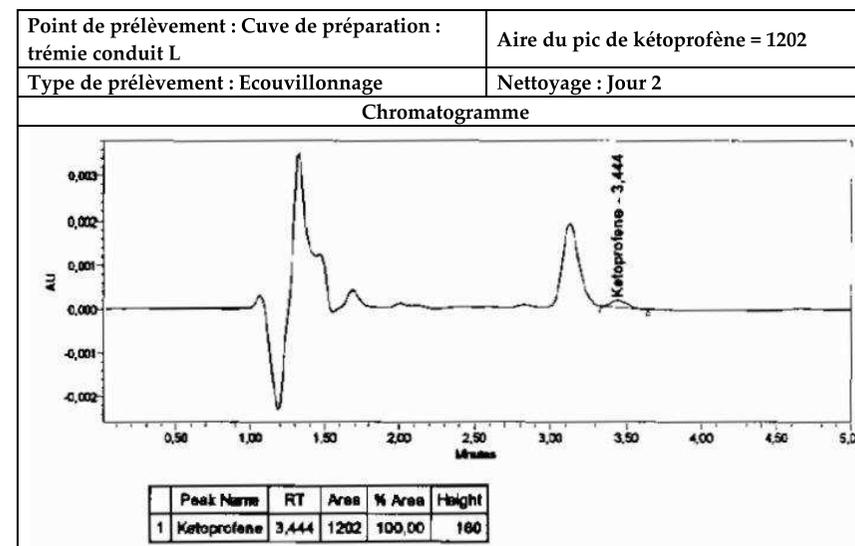
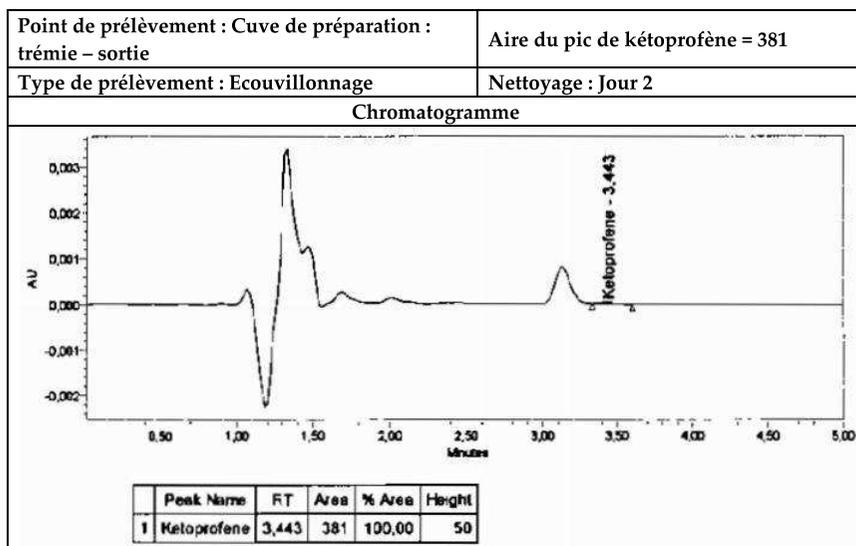


Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour la gamme standard – Jour 2

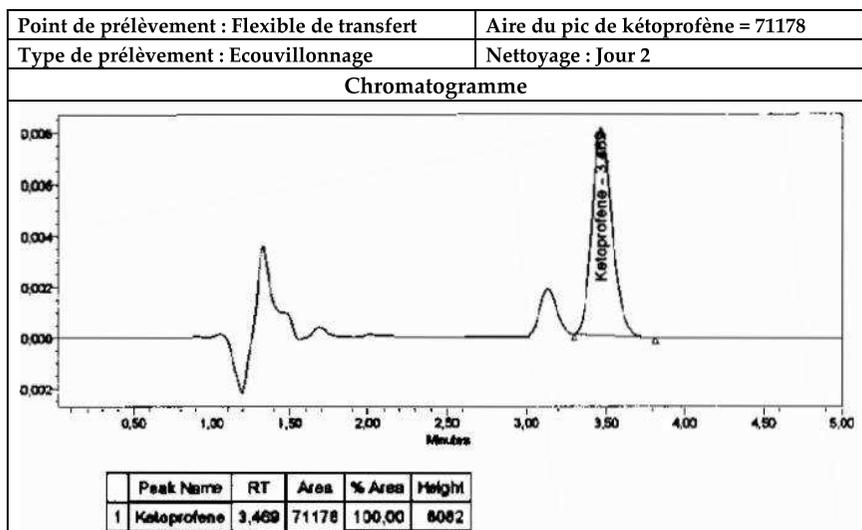


Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 2

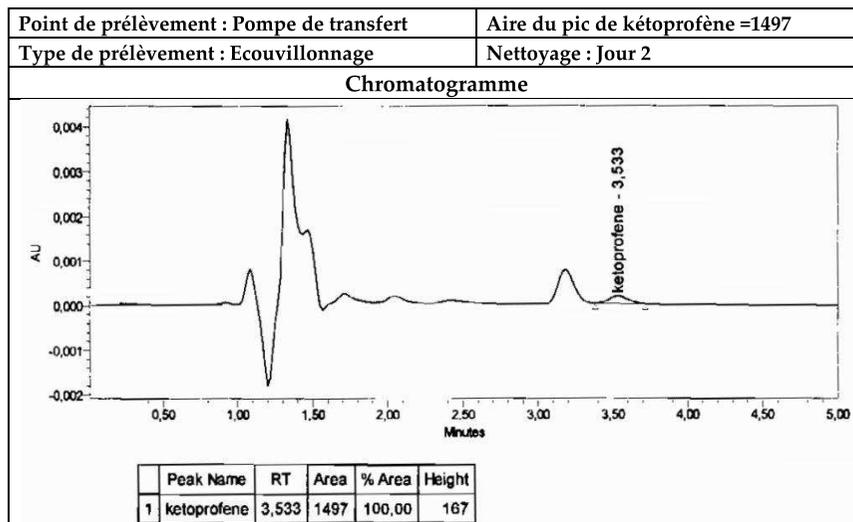
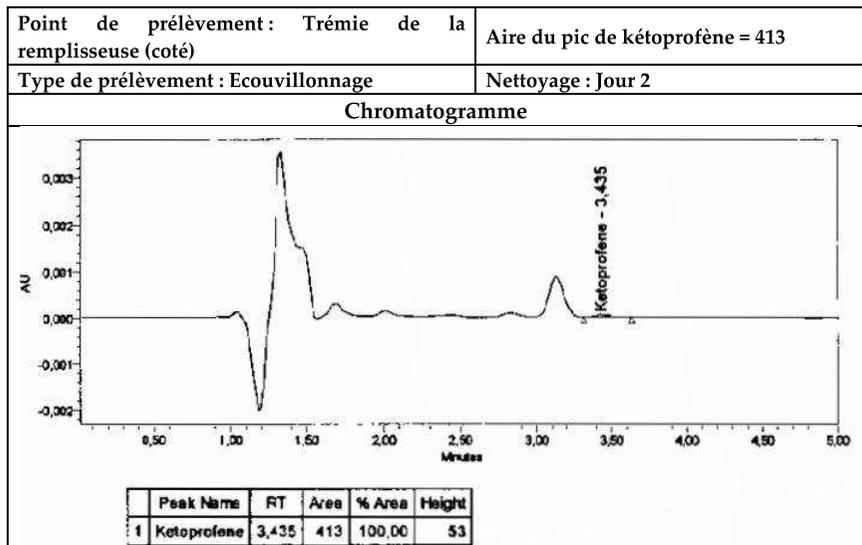
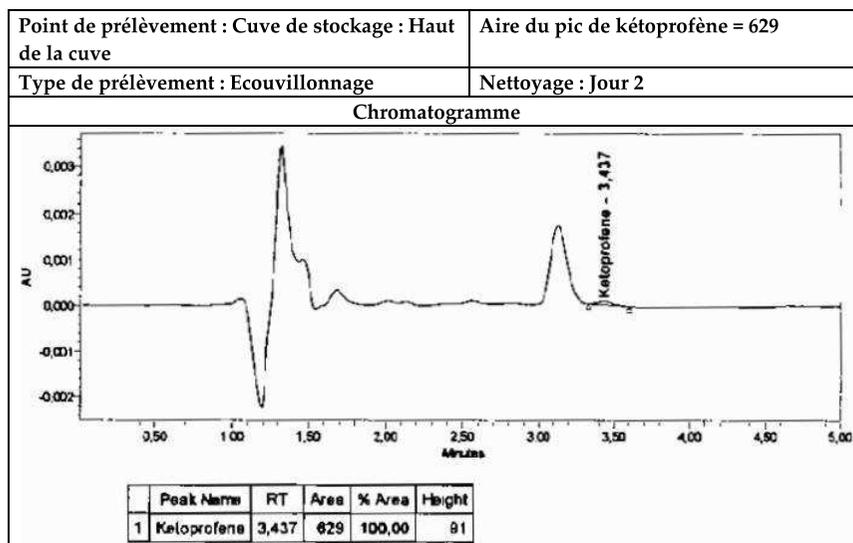
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 2



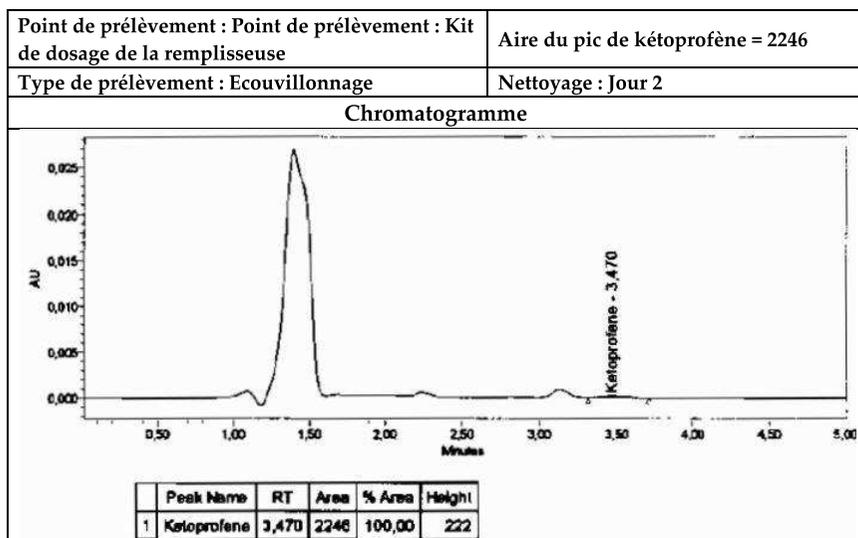
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 2



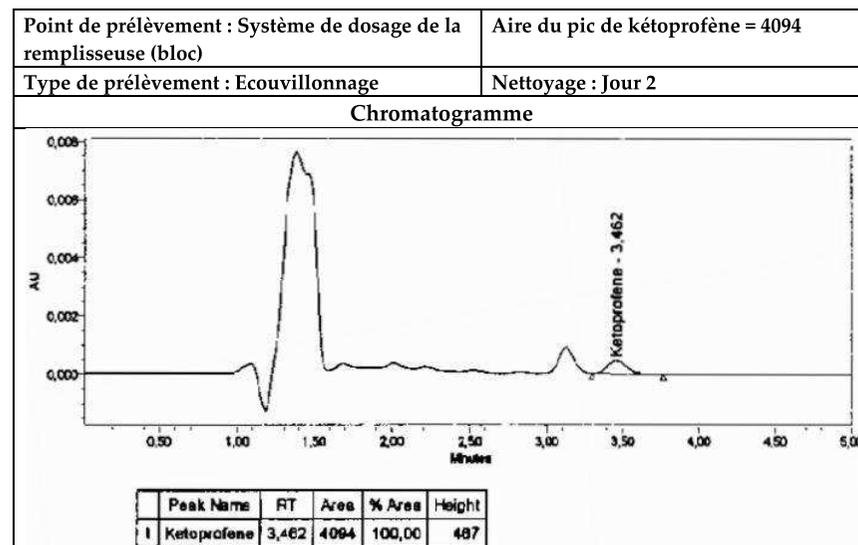
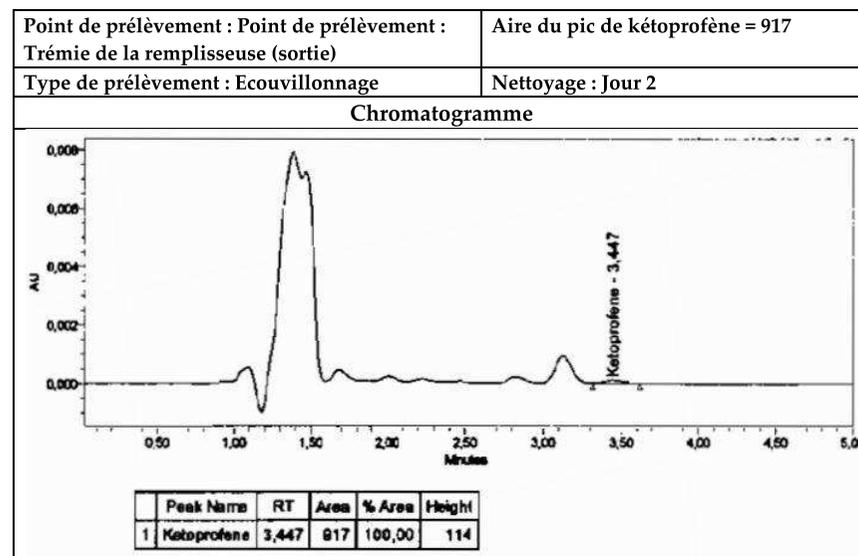
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 2



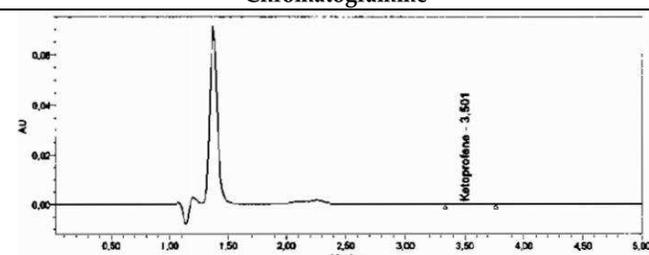
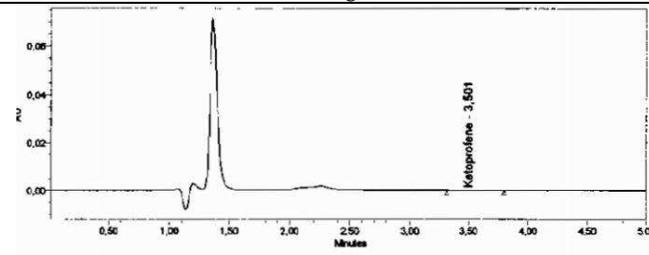
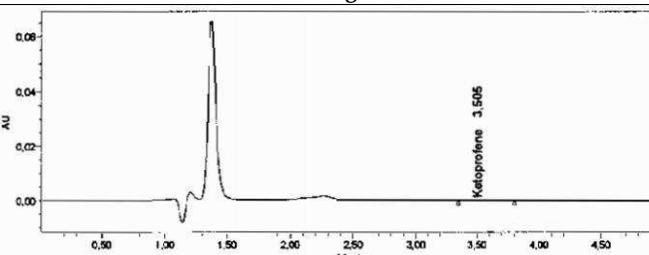
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 2



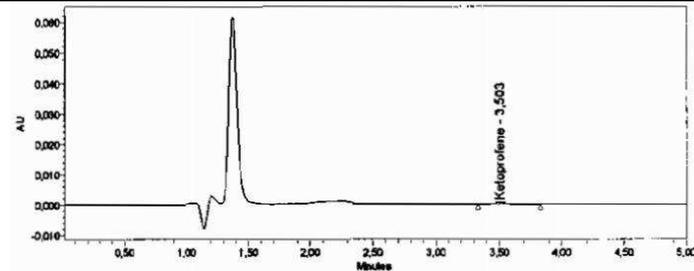
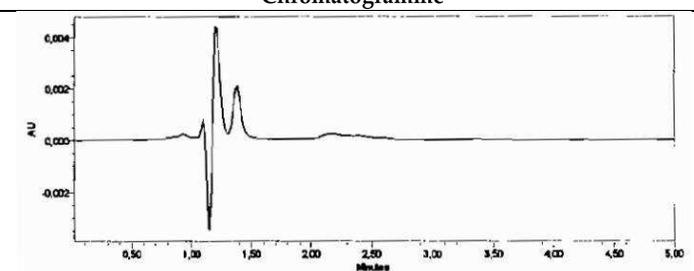
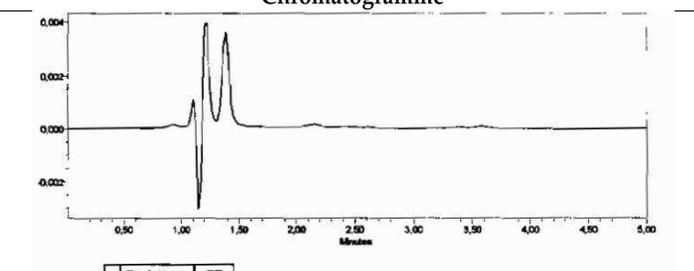
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 2

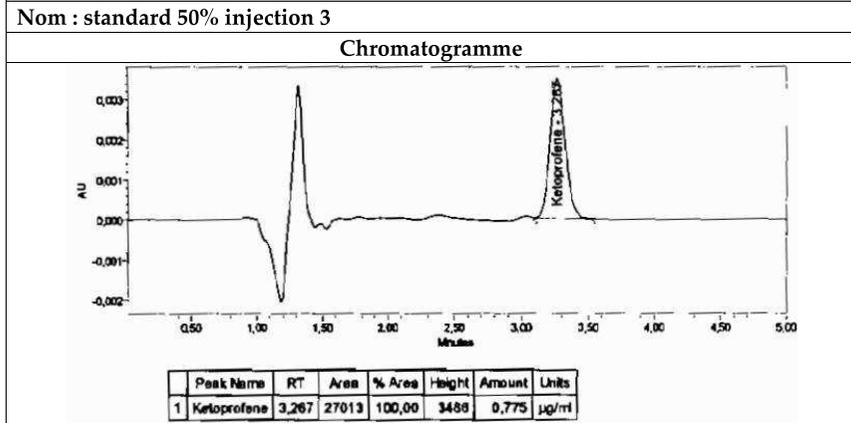
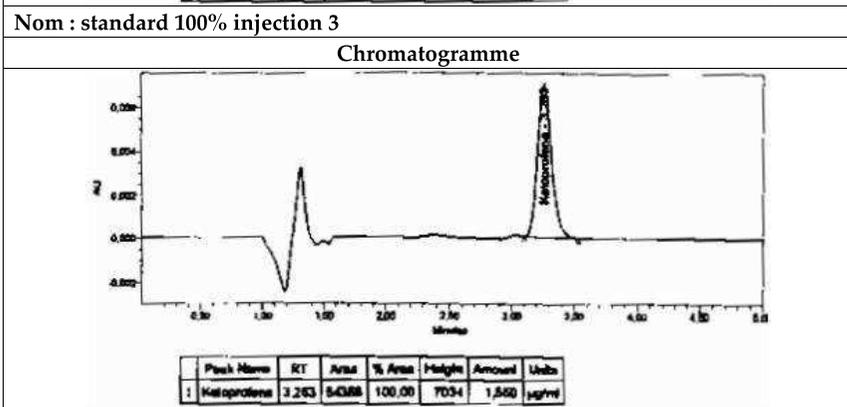
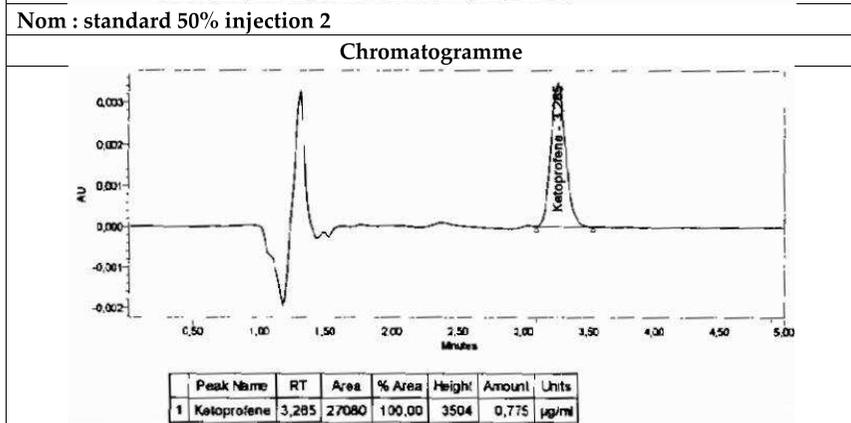
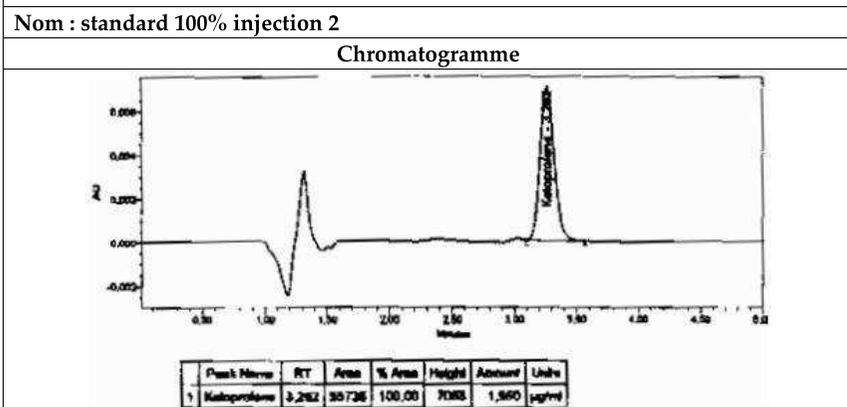
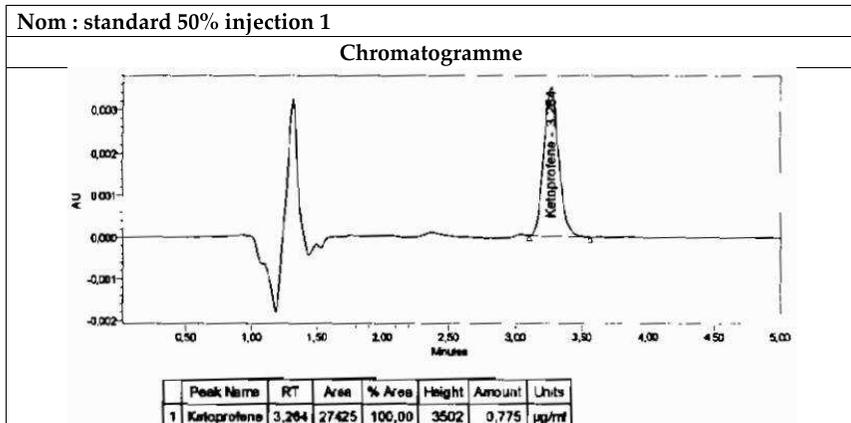
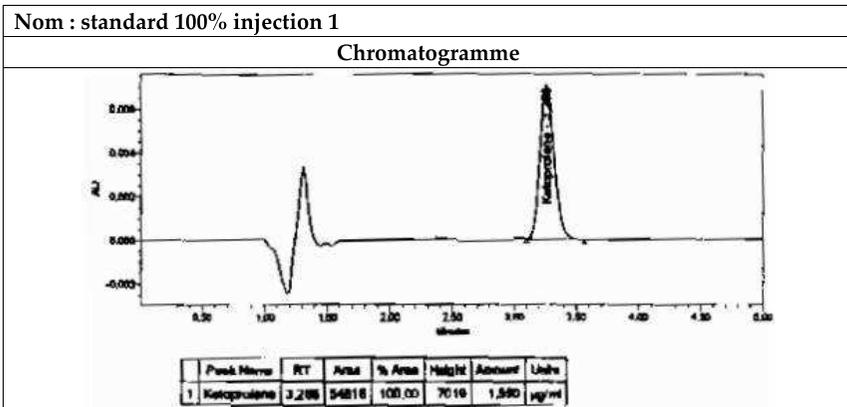


Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenue pour le dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jour 2

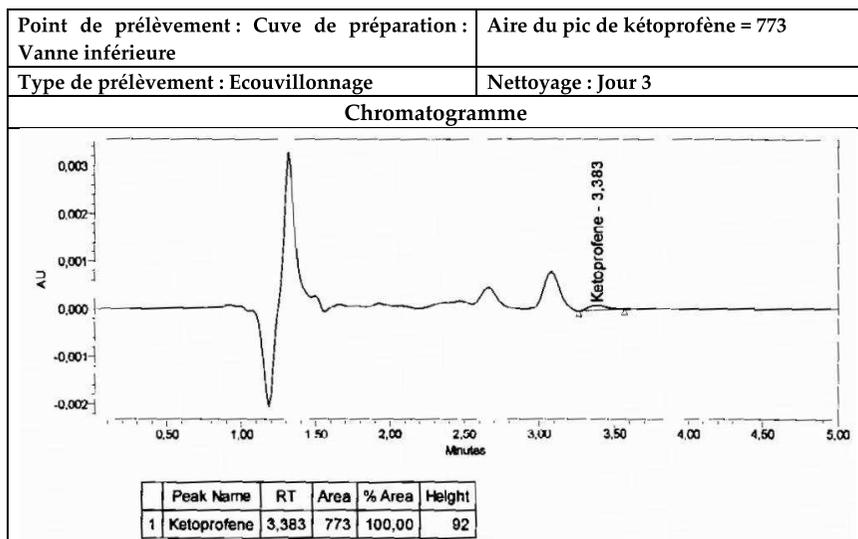
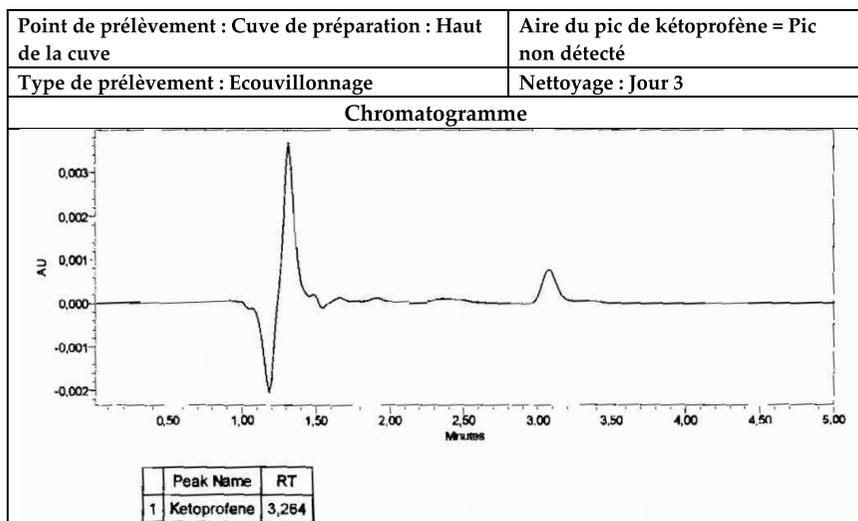
Point de prélèvement : trémie de la remplisseuse	Aire du pic de kétoprofène = 2406										
Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 2										
<b>Chromatogramme</b>											
											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Peak Name</th> <th>RT</th> <th>Area</th> <th>% Area</th> <th>Height</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 Ketoprofene</td> <td>3,501</td> <td>2406</td> <td>100,00</td> <td>272</td> </tr> </tbody> </table>		Peak Name	RT	Area	% Area	Height	1 Ketoprofene	3,501	2406	100,00	272
Peak Name	RT	Area	% Area	Height							
1 Ketoprofene	3,501	2406	100,00	272							
Point de prélèvement : Système de dosage	Aire du pic de kétoprofène = 2225										
Type de prélèvement :	Nettoyage : Jour 2										
<b>Chromatogramme</b>											
											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Peak Name</th> <th>RT</th> <th>Area</th> <th>% Area</th> <th>Height</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 Ketoprofene</td> <td>3,501</td> <td>2225</td> <td>100,00</td> <td>238</td> </tr> </tbody> </table>		Peak Name	RT	Area	% Area	Height	1 Ketoprofene	3,501	2225	100,00	238
Peak Name	RT	Area	% Area	Height							
1 Ketoprofene	3,501	2225	100,00	238							
Point de prélèvement : Flexible de transfert	Aire du pic de kétoprofène = 2215										
Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 2										
<b>Chromatogramme</b>											
											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Peak Name</th> <th>RT</th> <th>Area</th> <th>% Area</th> <th>Height</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 Ketoprofene</td> <td>3,505</td> <td>2215</td> <td>100,00</td> <td>232</td> </tr> </tbody> </table>		Peak Name	RT	Area	% Area	Height	1 Ketoprofene	3,505	2215	100,00	232
Peak Name	RT	Area	% Area	Height							
1 Ketoprofene	3,505	2215	100,00	232							

Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenue pour le dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jour 2

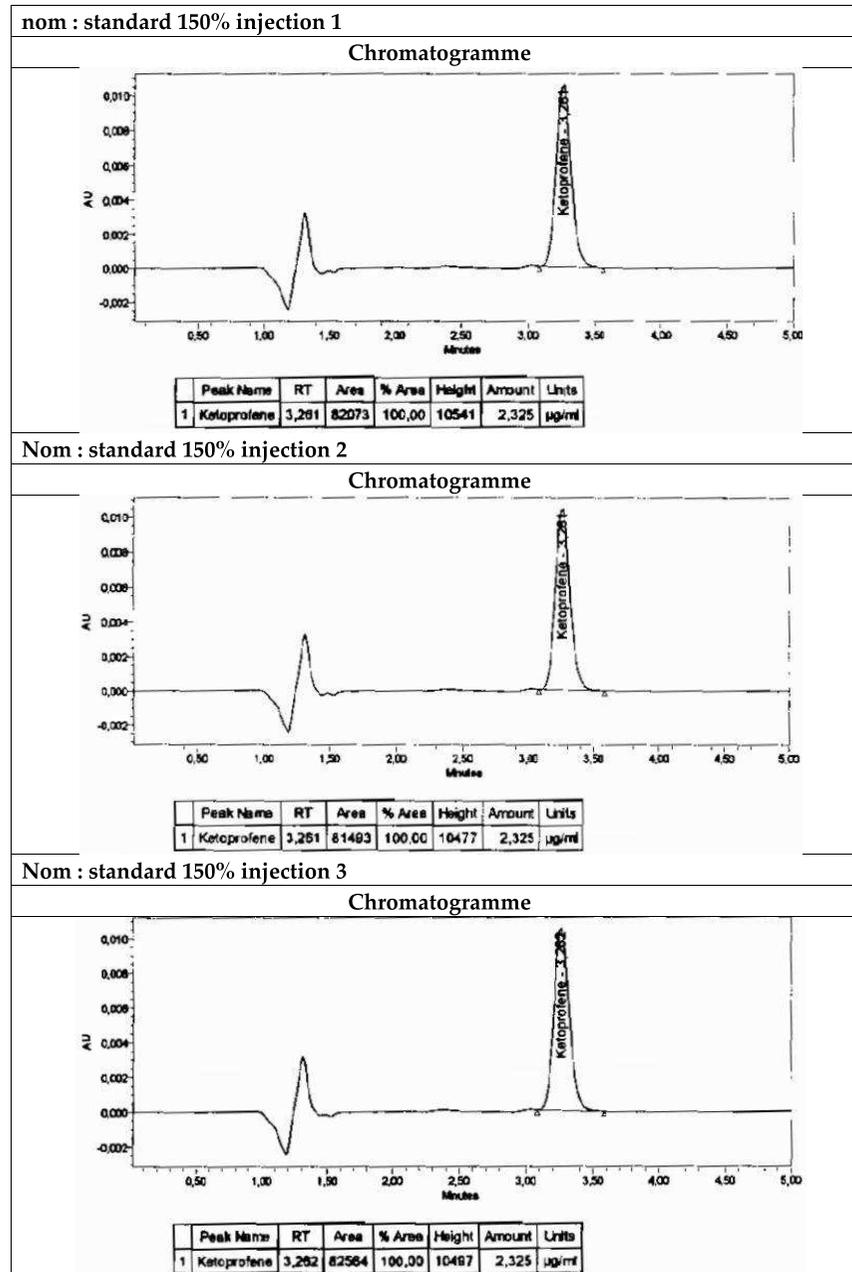
Point de prélèvement : Cuve de préparation	Aire du pic de kétoprofène = 6267										
Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 2										
<b>Chromatogramme</b>											
											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Peak Name</th> <th>RT</th> <th>Area</th> <th>% Area</th> <th>Height</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 Ketoprofene</td> <td>3,503</td> <td>6267</td> <td>100,00</td> <td>722</td> </tr> </tbody> </table>		Peak Name	RT	Area	% Area	Height	1 Ketoprofene	3,503	6267	100,00	722
Peak Name	RT	Area	% Area	Height							
1 Ketoprofene	3,503	6267	100,00	722							
Point de prélèvement : Pompe de transfert	Aire du pic de kétoprofène = Pic non détecté										
Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 2										
<b>Chromatogramme</b>											
											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Peak Name</th> <th>RT</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 ketoprofene</td> <td>3,625</td> </tr> </tbody> </table>		Peak Name	RT	1 ketoprofene	3,625						
Peak Name	RT										
1 ketoprofene	3,625										
Point de prélèvement : Cuve de stockage	Aire du pic de kétoprofène = Pic non détecté										
Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 2										
<b>Chromatogramme</b>											
											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Peak Name</th> <th>RT</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 ketoprofene</td> <td>3,625</td> </tr> </tbody> </table>		Peak Name	RT	1 ketoprofene	3,625						
Peak Name	RT										
1 ketoprofene	3,625										



Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 3

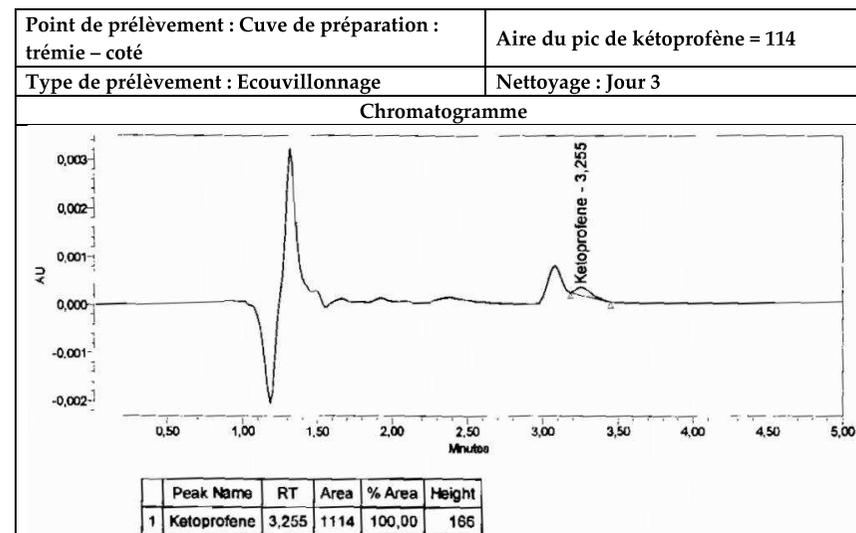
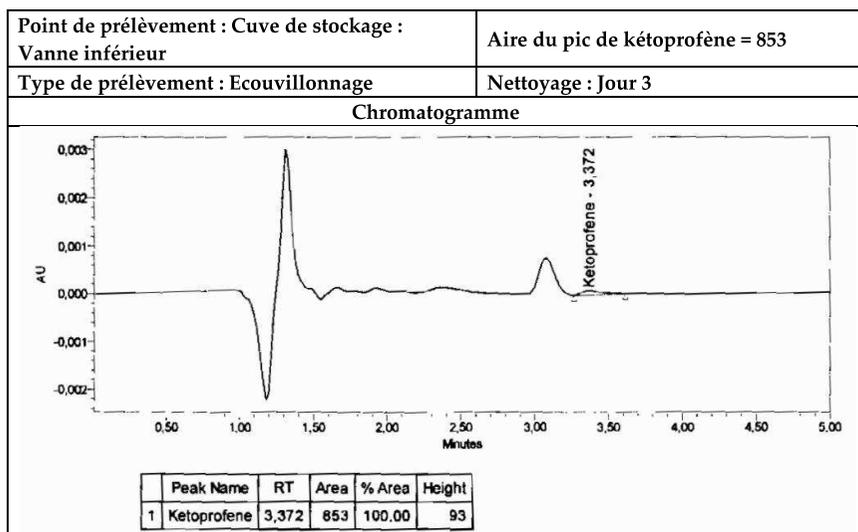
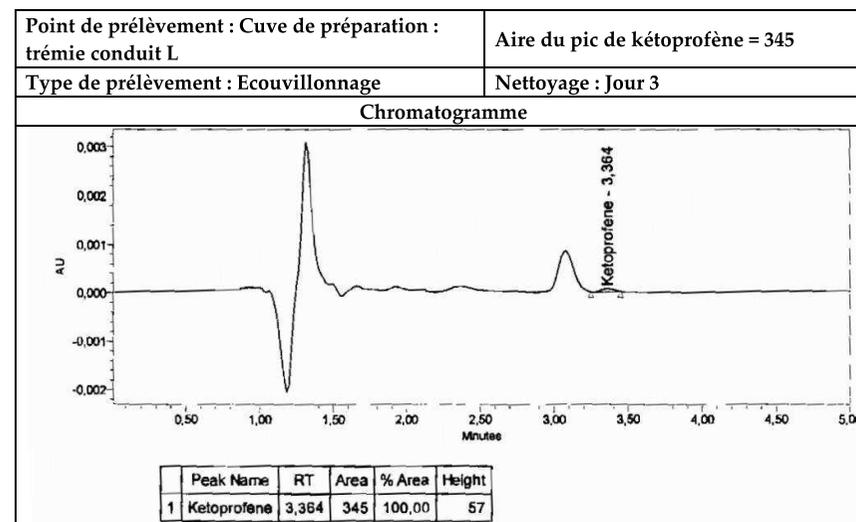
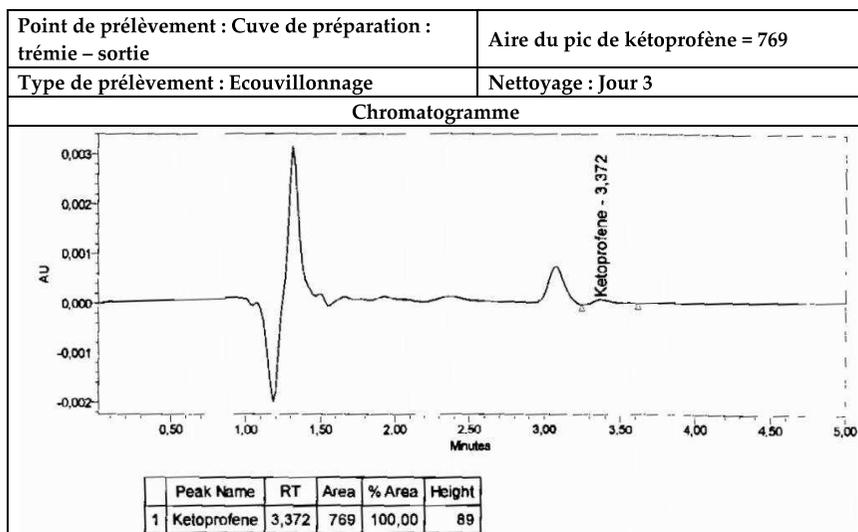


Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour la gamme standard – Jour 3

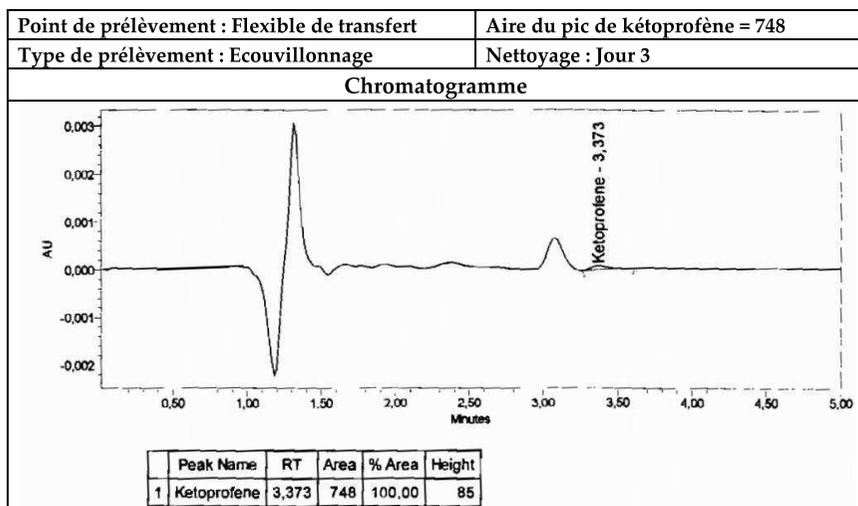


Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 3

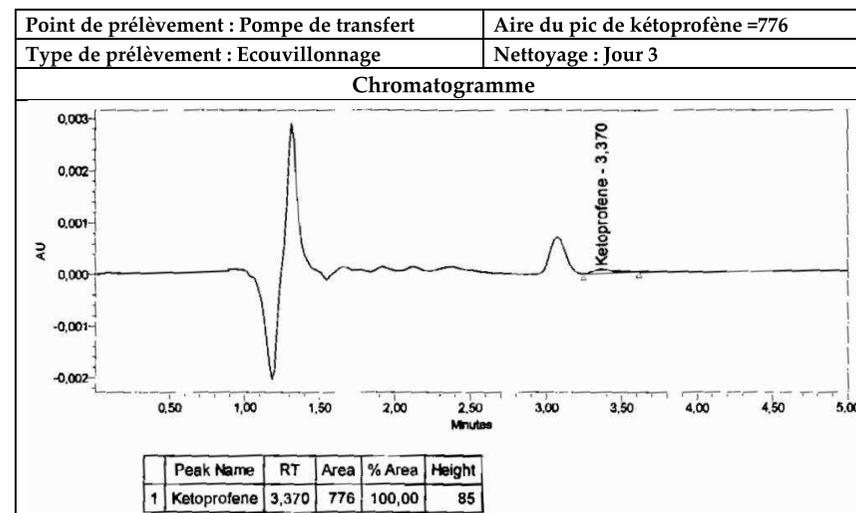
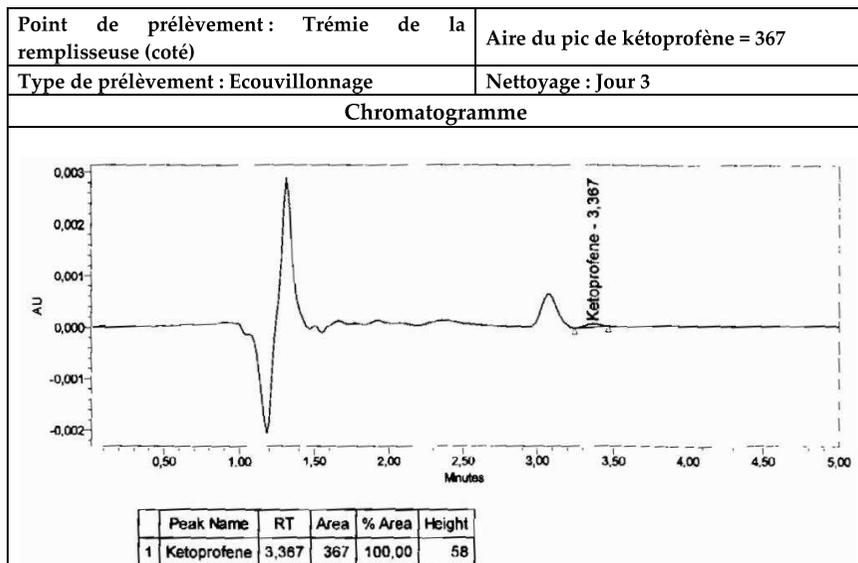
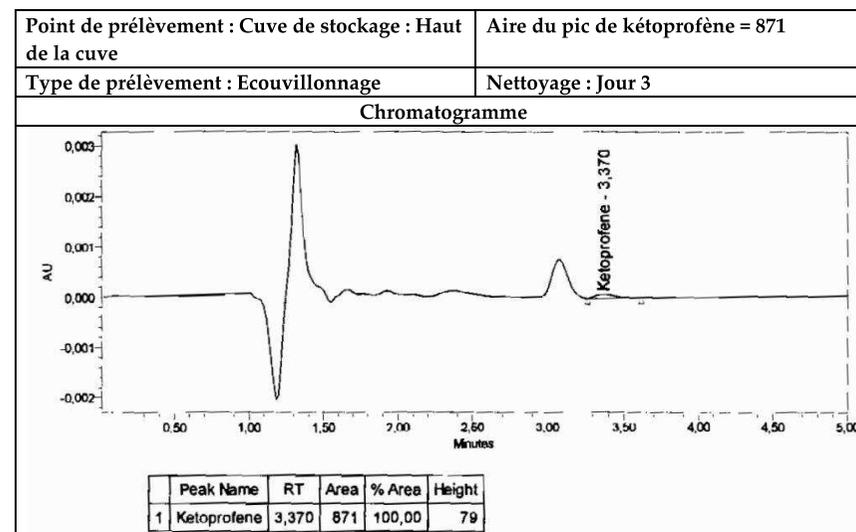
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 3



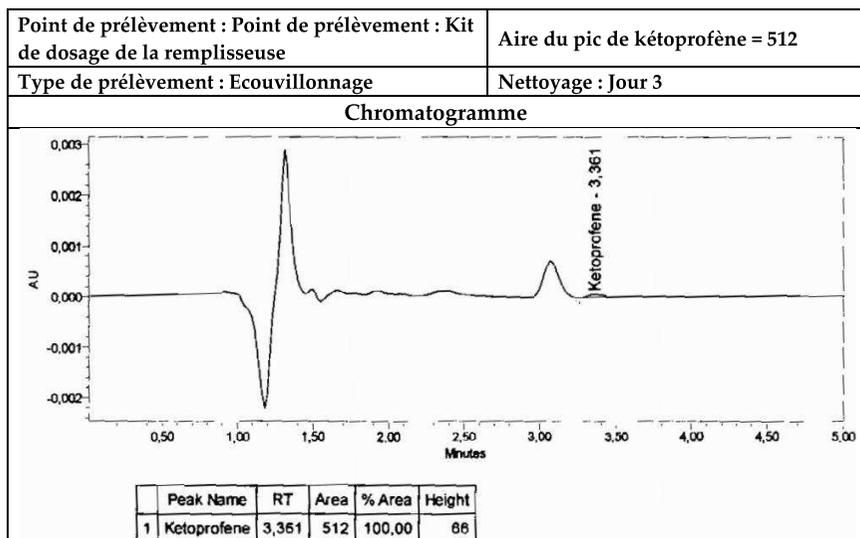
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 3



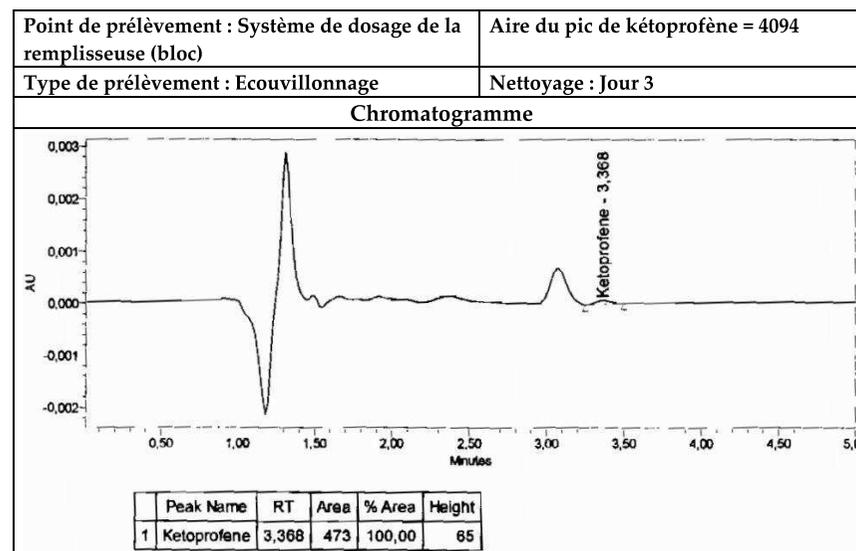
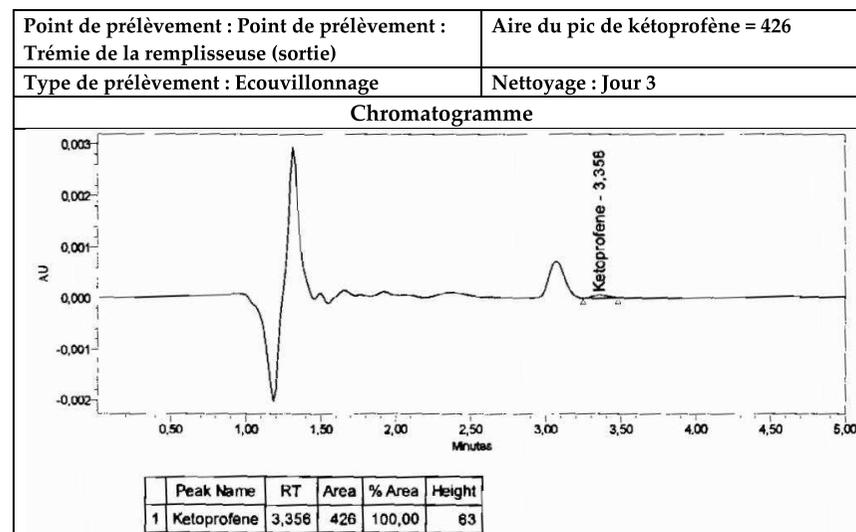
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 3



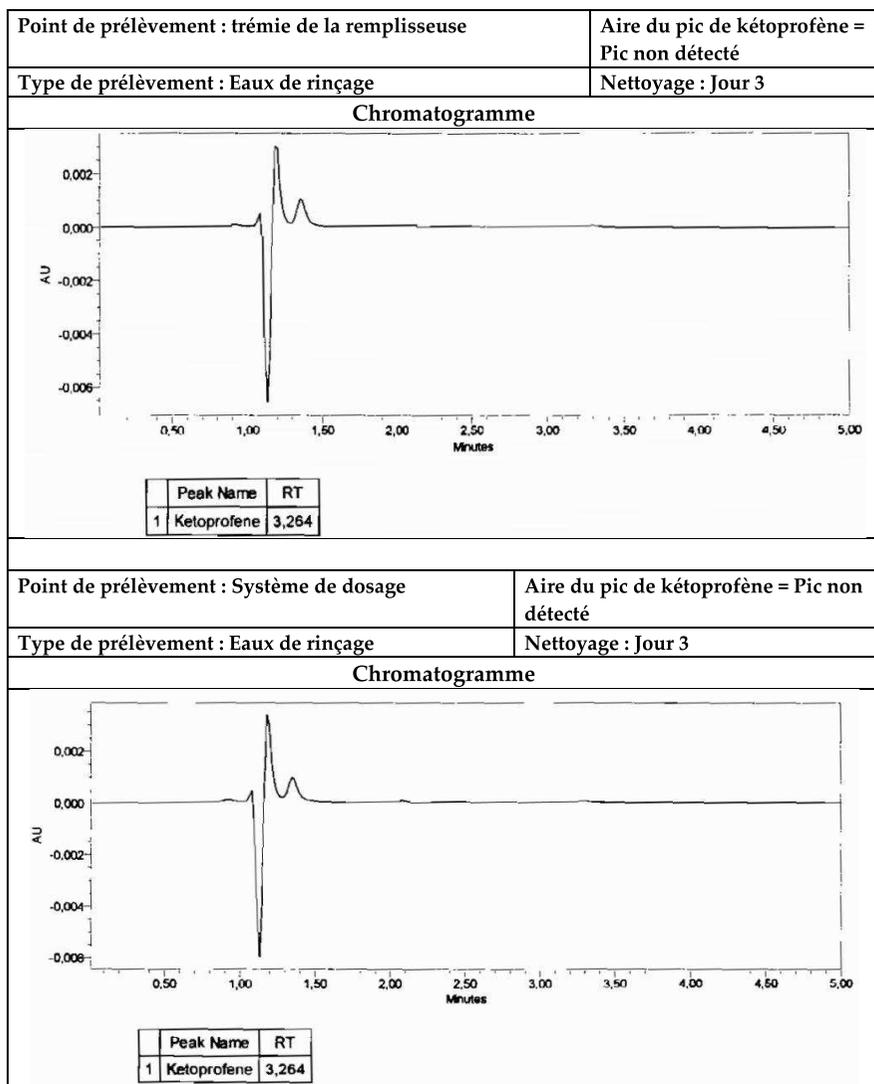
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 3



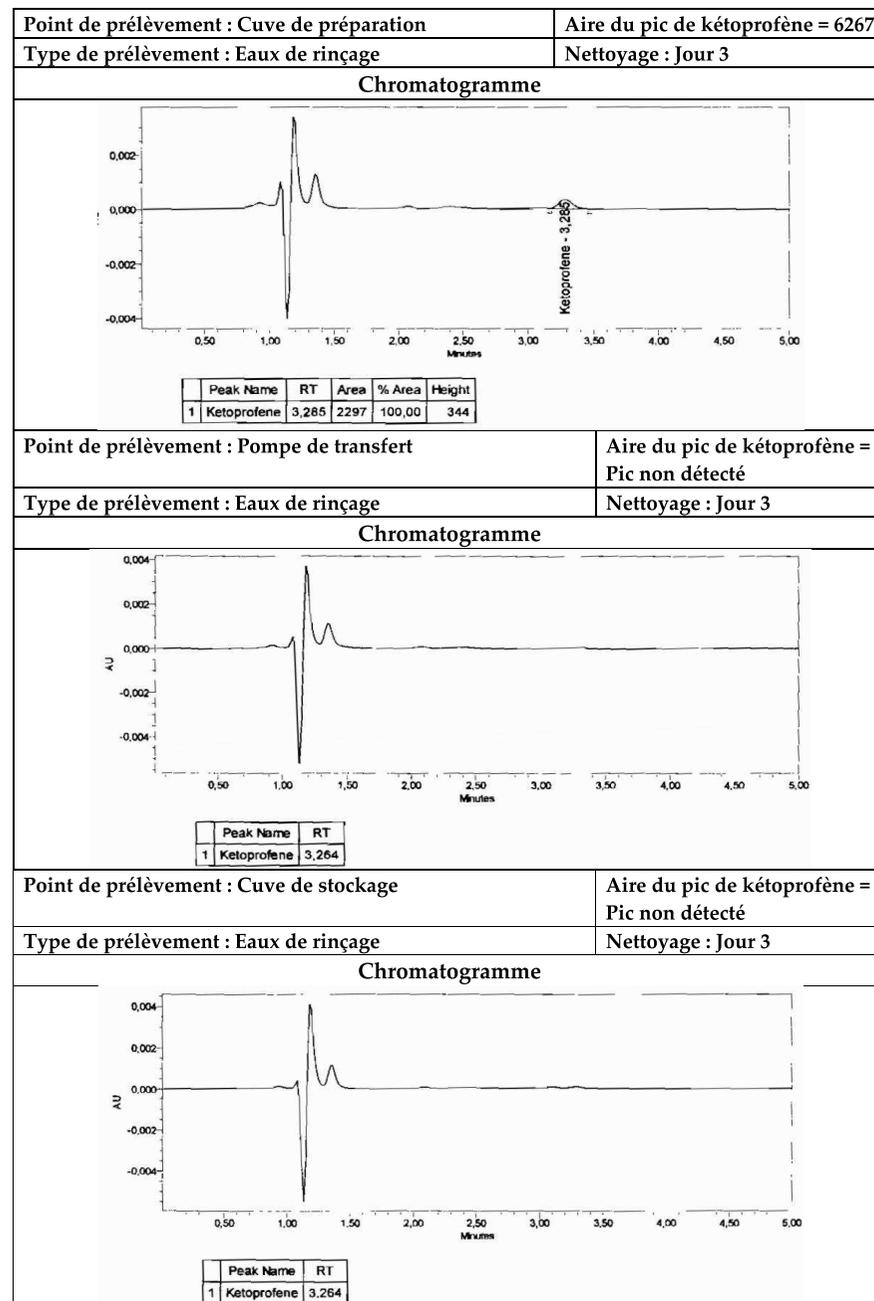
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenus pour le dosage du kétoprofène dans les prélèvements par écouvillonnage – Jour 3



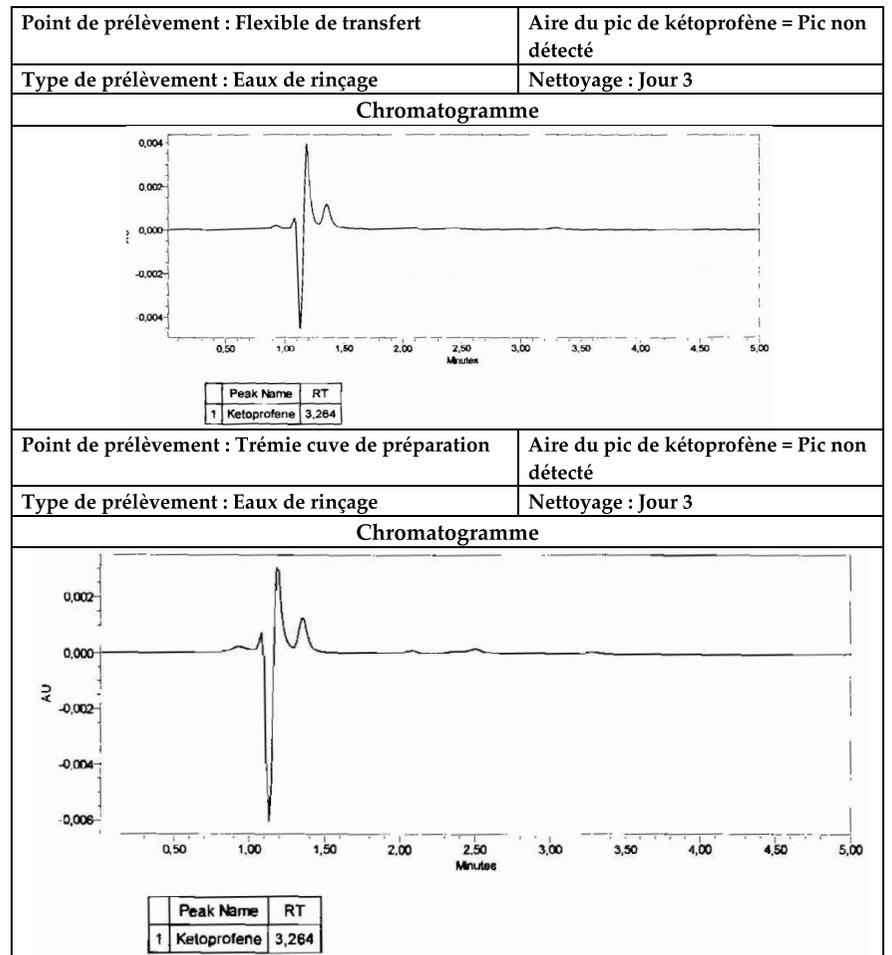
Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenue pour le dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jour 3



Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenue pour le dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jour 3



Annexe II : Validation de nettoyage de la ligne crème et gel – Chromatogrammes obtenue pour le dosage du kétoprofène dans les eaux de rinçage – Jour 3



## **Annexe III**

**Données brutes (chromatogrammes) : Validation  
de nettoyage de la ligne suppositoire**

Annexe III : validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du kétoprofène  
– Gamme standard. Jour 1

Nom : standard 50% injection 1 Chromatogramme		Nom : standard 50% injection 2 Chromatogramme		Nom : standard 50% injection 3 Chromatogramme																																																																						
<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>min</th> <th></th> <th></th> <th>mAU*min</th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4.78</td> <td>Ketoprofène</td> <td>n.a</td> <td>5.175</td> <td>7597</td> <td>n.a</td> <td>1.13</td> </tr> </tbody> </table>	No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)		min			mAU*min				1	4.78	Ketoprofène	n.a	5.175	7597	n.a	1.13	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>min</th> <th></th> <th></th> <th>mAU*min</th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4.78</td> <td>Ketoprofène</td> <td>n.a</td> <td>5.192</td> <td>7632</td> <td>n.a</td> <td>1.12</td> </tr> </tbody> </table>	No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)		min			mAU*min				1	4.78	Ketoprofène	n.a	5.192	7632	n.a	1.12	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>min</th> <th></th> <th></th> <th>mAU*min</th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4.78</td> <td>Ketoprofène</td> <td>n.a</td> <td>5.163</td> <td>7601</td> <td>n.a</td> <td>1.11</td> </tr> </tbody> </table>	No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)		min			mAU*min				1	4.78	Ketoprofène	n.a	5.163	7601	n.a	1.11
No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																																																																			
	min			mAU*min																																																																						
1	4.78	Ketoprofène	n.a	5.175	7597	n.a	1.13																																																																			
No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																																																																			
	min			mAU*min																																																																						
1	4.78	Ketoprofène	n.a	5.192	7632	n.a	1.12																																																																			
No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																																																																			
	min			mAU*min																																																																						
1	4.78	Ketoprofène	n.a	5.163	7601	n.a	1.11																																																																			

Annexe III : validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du kétoprofène  
– Gamme standard. Jour 1

Nom : standard 100 % injection 1 Chromatogramme		Nom : standard 100% injection 2 Chromatogramme		Nom : standard 100% injection 3 Chromatogramme																																																																						
<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>min</th> <th></th> <th></th> <th>mAU*min</th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4.78</td> <td>Ketoprofène</td> <td>n.a</td> <td>9.877</td> <td>7552</td> <td>n.a</td> <td>1.14</td> </tr> </tbody> </table>	No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)		min			mAU*min				1	4.78	Ketoprofène	n.a	9.877	7552	n.a	1.14	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>min</th> <th></th> <th></th> <th>mAU*min</th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4.78</td> <td>Ketoprofène</td> <td>n.a</td> <td>9.856</td> <td>7582</td> <td>n.a</td> <td>1.12</td> </tr> </tbody> </table>	No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)		min			mAU*min				1	4.78	Ketoprofène	n.a	9.856	7582	n.a	1.12	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>min</th> <th></th> <th></th> <th>mAU*min</th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4.78</td> <td>Ketoprofène</td> <td>n.a</td> <td>9.906</td> <td>7608</td> <td>n.a</td> <td>1.12</td> </tr> </tbody> </table>	No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)		min			mAU*min				1	4.78	Ketoprofène	n.a	9.906	7608	n.a	1.12
No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																																																																			
	min			mAU*min																																																																						
1	4.78	Ketoprofène	n.a	9.877	7552	n.a	1.14																																																																			
No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																																																																			
	min			mAU*min																																																																						
1	4.78	Ketoprofène	n.a	9.856	7582	n.a	1.12																																																																			
No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																																																																			
	min			mAU*min																																																																						
1	4.78	Ketoprofène	n.a	9.906	7608	n.a	1.12																																																																			

Annexe III : validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du kétoprofène  
– Gamme standard. Jour 1

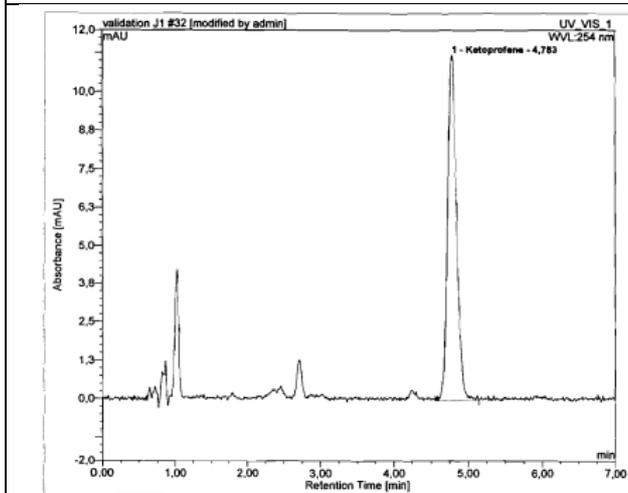
Nom : standard 150% injection 1		Nom : standard 150% injection 2		Nom : standard 150% injection 3		
Sample No.	Sample Name	Ret. Time min	Area mAU*min	Height mAU	Asymmetry(EP)	Plates (EP)
		Ketoprofene UV_VIS_1	Ketoprofene UV_VIS_1	Ketoprofene UV_VIS_1	Ketoprofene UV_VIS_1	Ketoprofene UV_VIS_1
13	Standard 150% Ketoprofene	4,783	15,0711	108,32	1,12	7578
14	Standard 150% Ketoprofene	4,783	15,2025	108,60	1,13	7558
15	Standard 150% Ketoprofene	4,783	15,1973	108,84	1,13	7597
<b>Average:</b>		<b>4,783</b>	<b>15,157</b>	<b>108,585</b>		<b>7578</b>
<b>Rel.Std.Dev:</b>		<b>0,000 %</b>	<b>0,491 %</b>	<b>0,239 %</b>		<b>0,257 %</b>

LV

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire. Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage. Jour 1

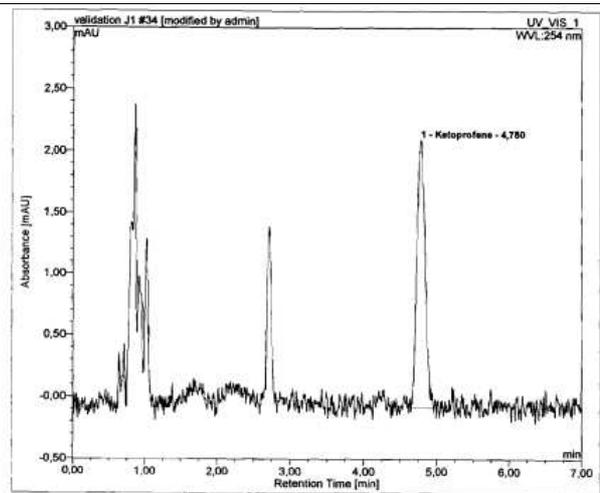
Point de prélèvement : Cuve de préparation - Haut de la cuve	Aire du pic de kétoprofène = 1,614	Point de prélèvement : Cuve de préparation : Vanne inférieure	Aire du pic de kétoprofène = 0,285
Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1	Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme



No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)
1	4,78	Ketoprofene	n.a.	1,614	7443	n.a.	1,11

Chromatogramme



No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)
1	4,78	Ketoprofene	n.a.	0,285	7869	n.a.	1,10

LVI

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire. Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage. Jour 1

Point de prélèvement : Cuve de stockage - Haut de la cuve	Aire du pic de kétoprofène = 2,722	Point de prélèvement : Cuve de stockage : Vanne inférieure	Aire du pic de kétoprofène = 4,261																																
Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1	Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1																																
<b>Chromatogramme</b>		<b>Chromatogramme</b>																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret. Time min</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area mAU*min</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4,78</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a.</td> <td>2,722</td> <td>8920</td> <td>n.a.</td> <td>1,11</td> </tr> </tbody> </table>		No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)	1	4,78	Ketoprofene	n.a.	2,722	8920	n.a.	1,11	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret. Time min</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area mAU*min</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4,78</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a.</td> <td>4,261</td> <td>6842</td> <td>n.a.</td> <td>1,15</td> </tr> </tbody> </table>		No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)	1	4,78	Ketoprofene	n.a.	4,261	6842	n.a.	1,15
No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																												
1	4,78	Ketoprofene	n.a.	2,722	8920	n.a.	1,11																												
No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																												
1	4,78	Ketoprofene	n.a.	4,261	6842	n.a.	1,15																												

LVII

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire. Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage. Jour 1

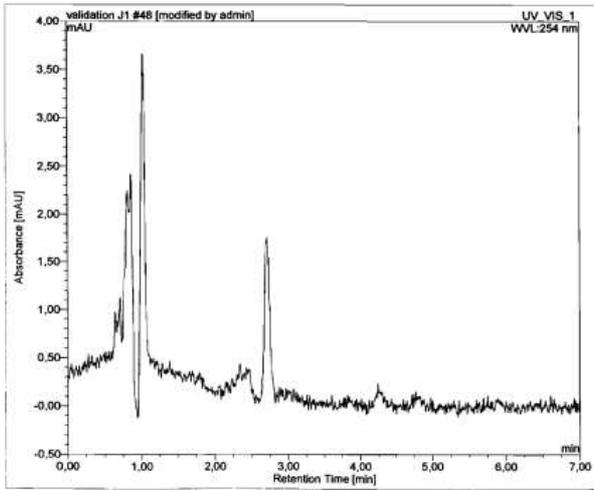
Point de prélèvement : Pompe de transfert	Aire du pic de kétoprofène = 1,558	Point de prélèvement Flexibles de préparation	Aire du pic de kétoprofène = 0,823																																
Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1	Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1																																
<b>Chromatogramme</b>		<b>Chromatogramme</b>																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret. Time min</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area mAU*min</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4,78</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a.</td> <td>1,558</td> <td>7902</td> <td>n.a.</td> <td>1,10</td> </tr> </tbody> </table>		No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)	1	4,78	Ketoprofene	n.a.	1,558	7902	n.a.	1,10	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret. Time min</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area mAU*min</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4,78</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a.</td> <td>0,823</td> <td>7349</td> <td>n.a.</td> <td>1,05</td> </tr> </tbody> </table>		No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)	1	4,78	Ketoprofene	n.a.	0,823	7349	n.a.	1,05
No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																												
1	4,78	Ketoprofene	n.a.	1,558	7902	n.a.	1,10																												
No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																												
1	4,78	Ketoprofene	n.a.	0,823	7349	n.a.	1,05																												

LVIII

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire. Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage. Jour 1

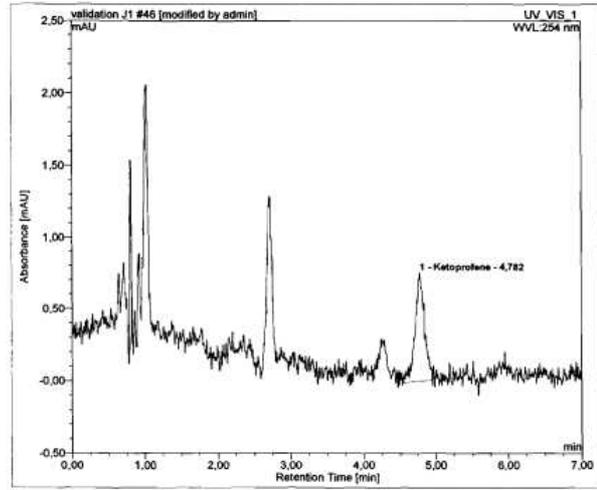
Point de prélèvement : pompe de recyclage	Aire du pic de kétoprofène = Pic non détecté	Point de prélèvement : Flexible de conditionnement	Aire du pic de kétoprofène = Pic 0,112
Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1	Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme



No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)

Chromatogramme

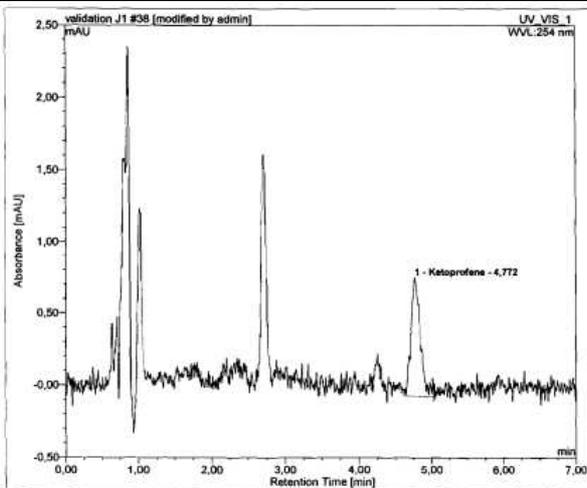


No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)
1	4.78	Ketoprofene	n.a.	0.112	8920	n.a.	0.87

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire. Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage. Jour 1

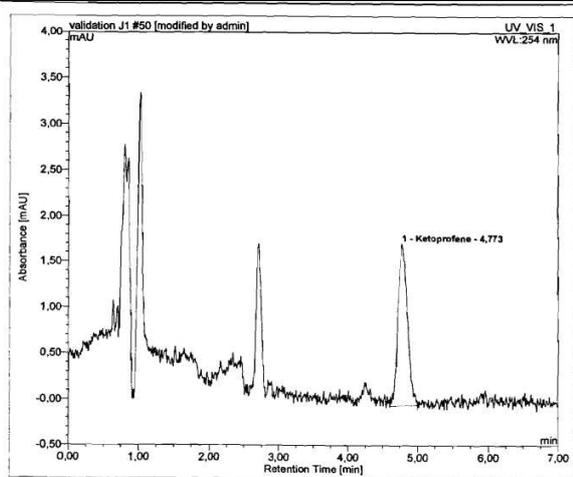
Point de prélèvement : Accessoires de travail (cuillère)	Aire du pic de kétoprofène = Pic 0,123	Point de prélèvement : station de dosage – injecteur	Aire du pic de kétoprofène = Pic 0,277
Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1	Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme



No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)
1	4.77	Ketoprofene	n.a.	0.123	7148	n.a.	1.03

Chromatogramme



No.	Ret. Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)
1	4.77	Ketoprofene	n.a.	0.277	5648	n.a.	1.12

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire. Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage. Jour 1

Point de prélèvement : station de dosage – chambre	Aire du pic de kétoprofène = Pic non détecté	Point de prélèvement : station de dosage – clapets	Aire du pic de kétoprofène = Pic 0,252																																
Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1	Type de prélèvement : Ecouvillonnage	Nettoyage : Jour 1																																
<b>Chromatogramme</b>		<b>Chromatogramme</b>																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time min</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area mAU*min</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4,79</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a</td> <td>0,252</td> <td>6074</td> <td>n.a</td> <td>1,03</td> </tr> </tbody> </table>		No.	Ret.Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)	1	4,79	Ketoprofene	n.a	0,252	6074	n.a	1,03	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time min</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area mAU*min</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4,79</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a</td> <td>0,252</td> <td>6074</td> <td>n.a</td> <td>1,03</td> </tr> </tbody> </table>		No.	Ret.Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)	1	4,79	Ketoprofene	n.a	0,252	6074	n.a	1,03
No.	Ret.Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																												
1	4,79	Ketoprofene	n.a	0,252	6074	n.a	1,03																												
No.	Ret.Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																												
1	4,79	Ketoprofene	n.a	0,252	6074	n.a	1,03																												

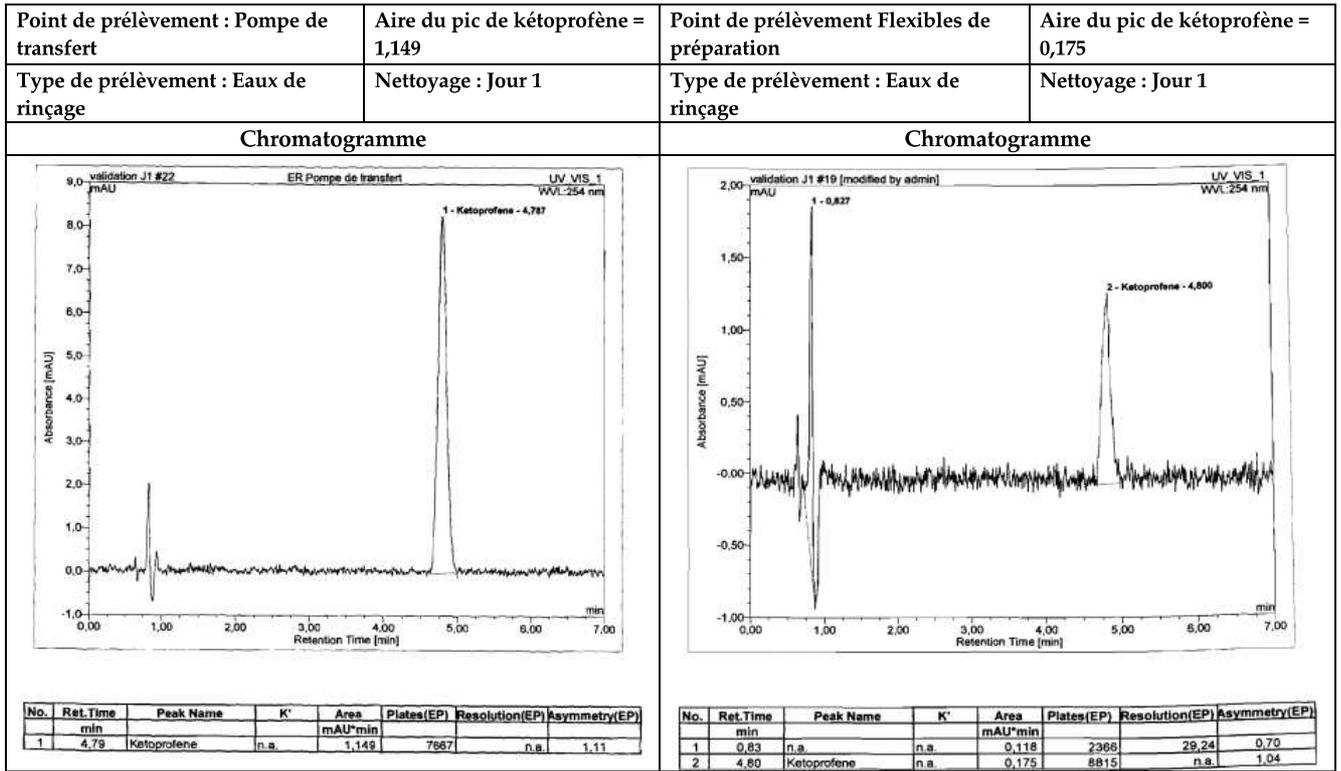
LXI

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – eaux de rinçage. Jour 1

Point de prélèvement : Cuve de préparation	Aire du pic de kétoprofène = 0,242	Point de prélèvement : Cuve de stockage	Aire du pic de kétoprofène = 0,739																																
Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 1	Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 1																																
<b>Chromatogramme</b>		<b>Chromatogramme</b>																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time min</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area mAU*min</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4,79</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a</td> <td>0,242</td> <td>7823</td> <td>n.a</td> <td>1,15</td> </tr> </tbody> </table>		No.	Ret.Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)	1	4,79	Ketoprofene	n.a	0,242	7823	n.a	1,15	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time min</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area mAU*min</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4,79</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a</td> <td>0,739</td> <td>7845</td> <td>n.a</td> <td>1,06</td> </tr> </tbody> </table>		No.	Ret.Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)	1	4,79	Ketoprofene	n.a	0,739	7845	n.a	1,06
No.	Ret.Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																												
1	4,79	Ketoprofene	n.a	0,242	7823	n.a	1,15																												
No.	Ret.Time min	Peak Name	K'	Area mAU*min	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																												
1	4,79	Ketoprofene	n.a	0,739	7845	n.a	1,06																												

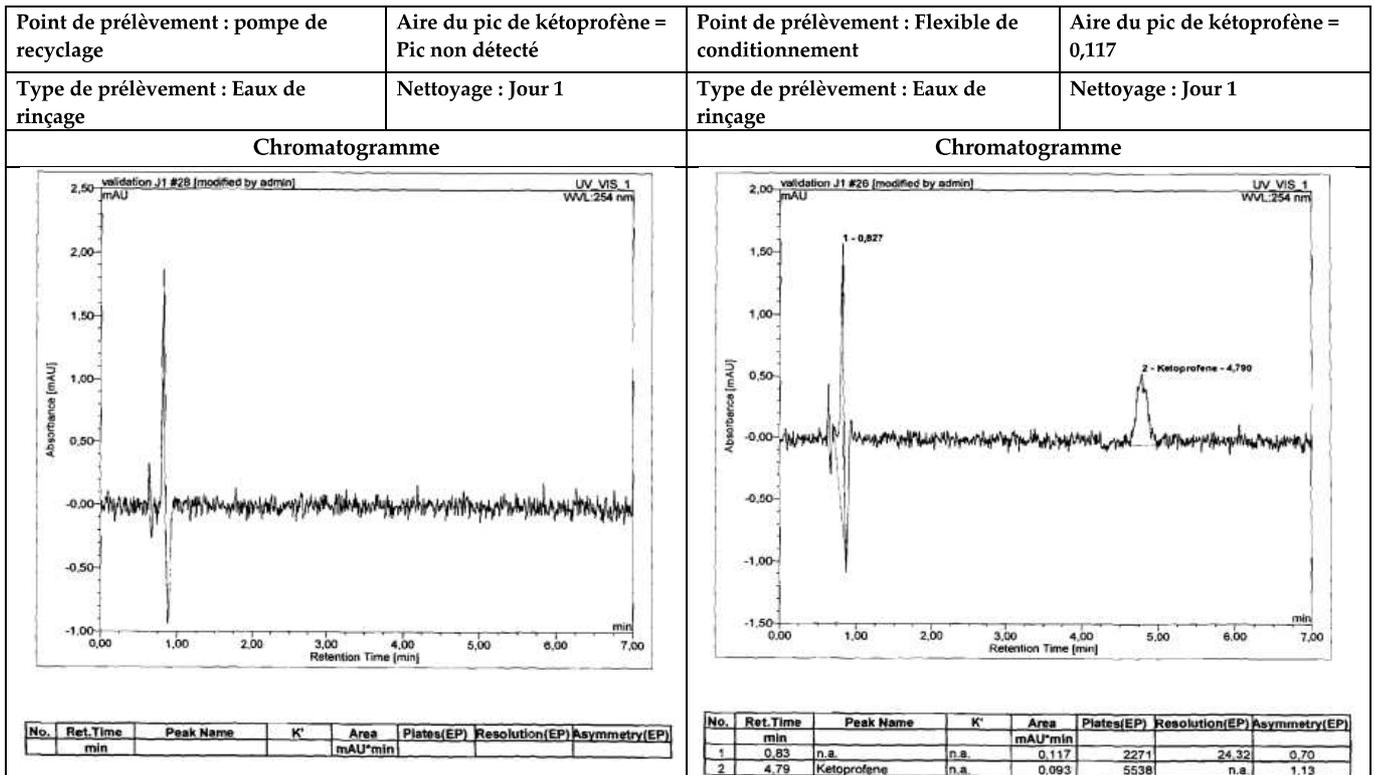
LXII

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – eaux de rinçage. Jour 1



LXIII

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – eaux de rinçage. Jour 1



LXIV

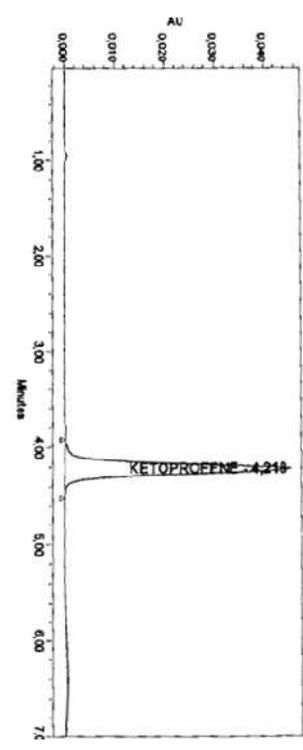
Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – eaux de rinçage. Jour 1

Point de prélèvement : Accessoires de travail (cuillère)	Aire du pic de kétoprofène = 0,082	Point de prélèvement : station de dosage	Aire du pic de kétoprofène = Pic non détecté																																																
Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 1	Type de prélèvement : Eaux de rinçage	Nettoyage : Jour 1																																																
Chromatogramme		Chromatogramme																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>min</th> <th></th> <th></th> <th>mAU*min</th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4.79</td> <td>Ketoprofene</td> <td>n.a.</td> <td>0.082</td> <td>10992</td> <td>n.a.</td> <td>1.08</td> </tr> </tbody> </table>	No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)		min			mAU*min				1	4.79	Ketoprofene	n.a.	0.082	10992	n.a.	1.08		<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Ret.Time</th> <th>Peak Name</th> <th>K'</th> <th>Area</th> <th>Plates(EP)</th> <th>Resolution(EP)</th> <th>Asymmetry(EP)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>min</th> <th></th> <th></th> <th>mAU*min</th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)		min			mAU*min												
No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																																												
	min			mAU*min																																															
1	4.79	Ketoprofene	n.a.	0.082	10992	n.a.	1.08																																												
No.	Ret.Time	Peak Name	K'	Area	Plates(EP)	Resolution(EP)	Asymmetry(EP)																																												
	min			mAU*min																																															

LXV

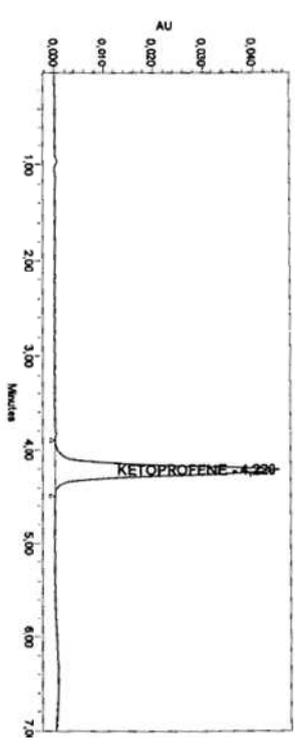
Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du kétoprofène – Gamme standard. Jours 2 et 3

Nom : standard 50% injection 1



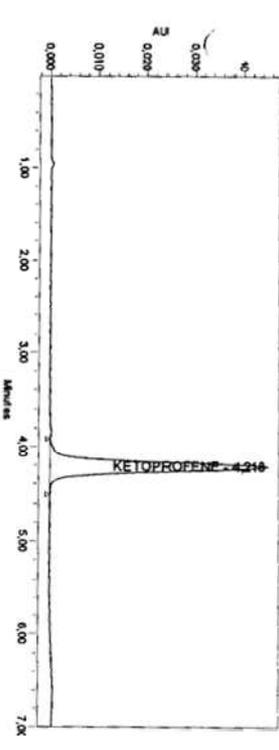
Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.218	326296	1.21833e+000	9.92759e-001

Nom : standard 50% injection 2



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.220	326353	1.22032e+000	9.95987e-001

Nom : standard 50% injection 3



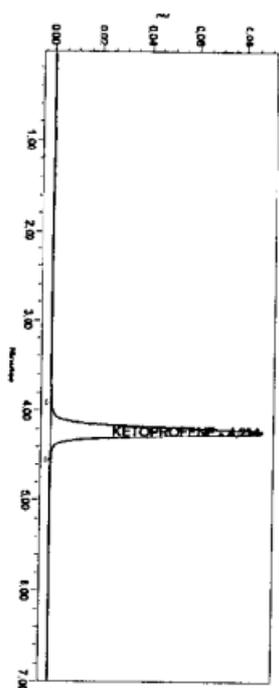
Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.216	325873	1.21780e+000	9.905467e-001

LXVI

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du kétoprofène – Gamme standard, Jours 2 et 3

Nom : standard 100% injection 1

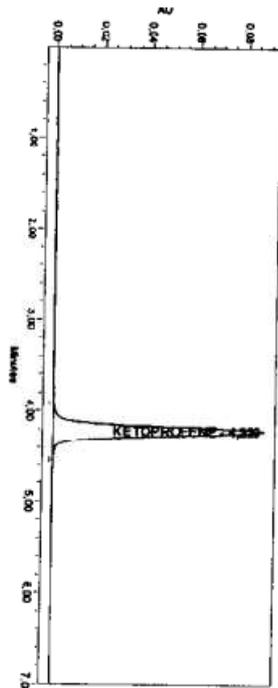
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.234	0.62944	3.224446e+000	9.817318e-001

Nom : standard 100% injection 2

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.220	0.41940	3.220071e+000	9.811150e-001

Nom : standard 100% injection 3

Chromatogramme

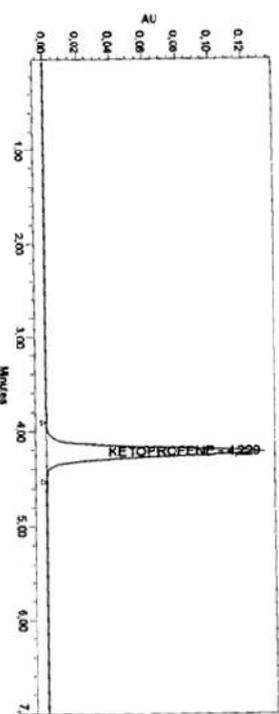


Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.223	0.47937	3.222508e+000	9.828588e-001

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du kétoprofène – Gamme standard, Jours 2 et 3

nom : standard 150% injection 1

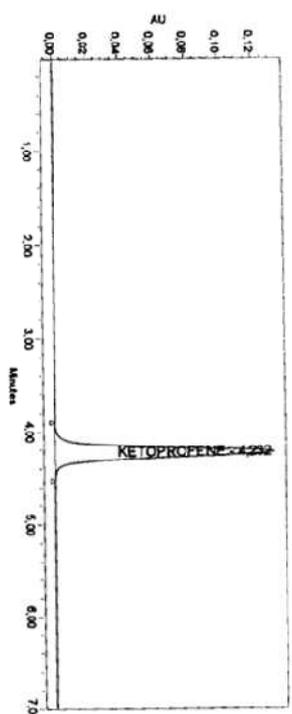
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.229	0.62721	3.229215e+000	9.828715e-001

Nom : standard 150% injection 2

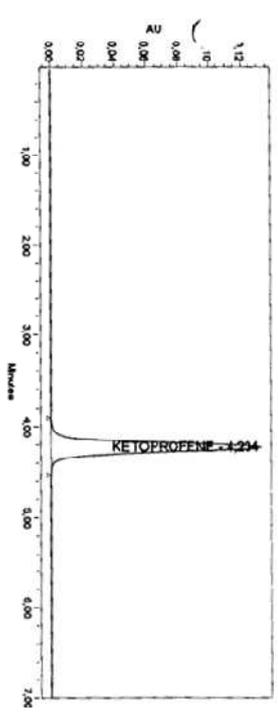
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.232	0.57705	3.231970e+000	9.839522e-001

Nom : standard 150% injection 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1 KETOPROFENE	4.234	0.59137	3.233959e+000	9.919786e-001

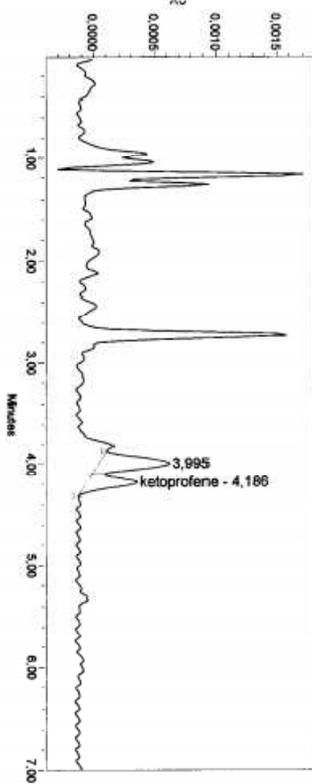
Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène. Prélèvement par écouvillonnage, Jour 2

Point de prélèvement : Cuve de préparation : Haut Aire du pic de kétoprofène = 2804 de la cuve

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	3,995	4591	2,994892e+000	5,184417e+003
2	kétoprofène 4,186	2804	3,198106e+000	8,207907e+003

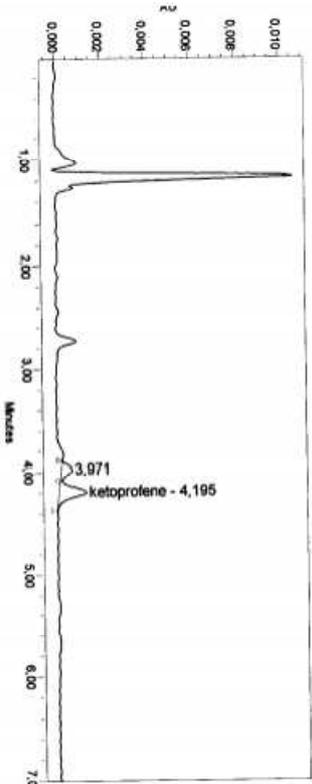
Point de prélèvement : Cuve de préparation : Aire du pic de kétoprofène = 8269

Vanne inférieure

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	3,971	3163	2,970739e+000	7,462979e+003
2	kétoprofène 4,195	8269	3,194741e+000	9,149183e+003

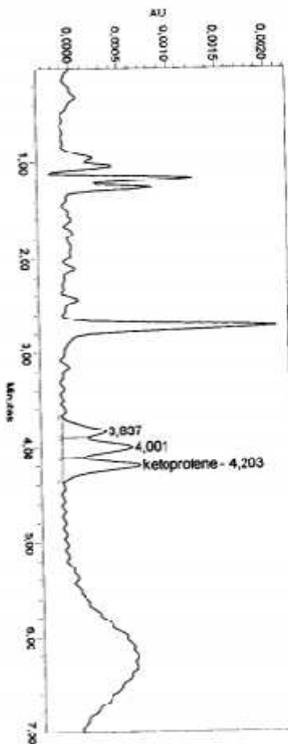
Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène. Prélèvement par écouvillonnage, Jour 2

Point de prélèvement : Cuve de stockage : Haut Aire du pic de kétoprofène = 5627 de la cuve

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	3,837	3195	2,837067e+000	4,59379e+003
2	4,001	5906	3,000511e+000	8,196615e+003
3	kétoprofène 4,203	5627	3,203351e+000	8,196615e+003

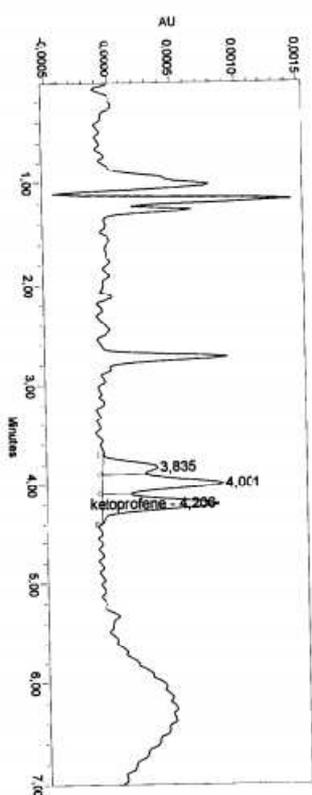
Point de prélèvement : Cuve de stockage : Aire du pic de kétoprofène = 6636

Vanne inférieur

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme

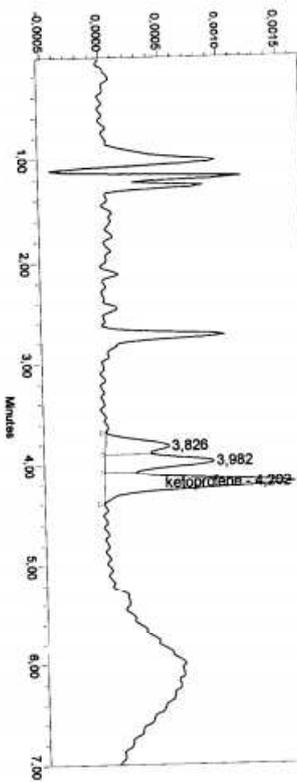


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	3,835	3236	2,834890e+000	4,681184e+003
2	4,001	7442	3,000964e+000	7,217709e+003
3	kétoprofène 4,206	6636	3,206498e+000	7,217709e+003

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène. Prélèvement par écouvillonnage, Jour 2

Point de prélèvement : Pompe de transfert Aire du pic de kétoprofène =11688  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

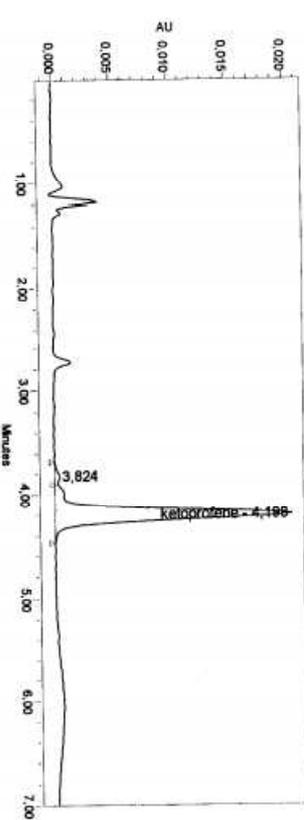
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Plate Count	
1	3,826	4318	2,825740e+000		
2	3,982	8875	2,982099e+000	4,882813e+003	
3	ketoprofene	4,202	11688	3,201688e+000	8,070431e+003

Point de prélèvement : Flexible de préparation Aire du pic de kétoprofène = 153784  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme

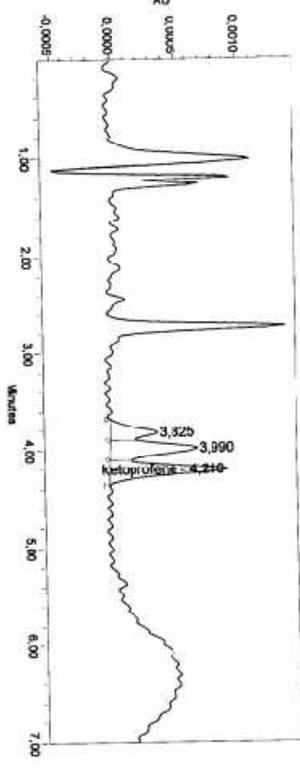


Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor	USP Plate Count	
1	3,824	3199	2,823743e+000			
2	ketoprofene	4,198	153784	3,197912e+000	9,555164e-001	8,064689e+003

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène. Prélèvement par écouvillonnage, Jour 2

Point de prélèvement : Station de dosage - Injecteurs Aire du pic de kétoprofène = 6754  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

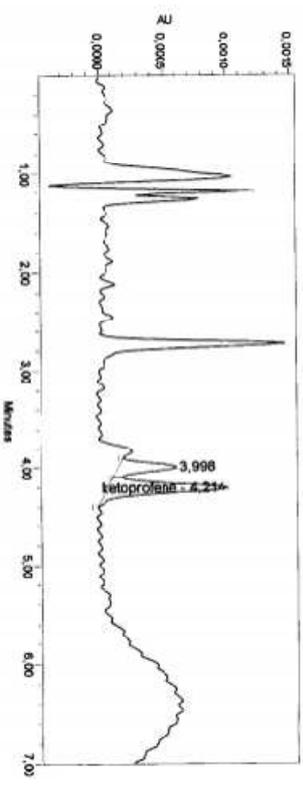
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Plate Count	
1	3,525	2883	2,825390e+000		
2	3,990	5438	2,989736e+000	5,242778e+003	
3	ketoprofene	4,210	6754	3,210236e+000	7,608178e+003

Point de prélèvement : Point de prélèvement : Station de dosage - chambre Aire du pic de kétoprofène = 6425  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



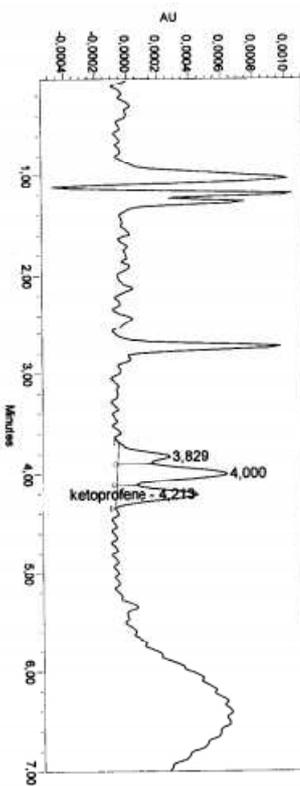
Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Plate Count	
1	3,998	2835	2,997539e+000	9,429141e+003	
2	ketoprofene	4,214	6425	3,214212e+000	9,588179e+003

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène. Prélèvement par écouvillonnage, Jour 2

Point de prélèvement : Point de prélèvement : Aire du pic de kétoprofène = 3819  
Station de dosage - clapets

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme

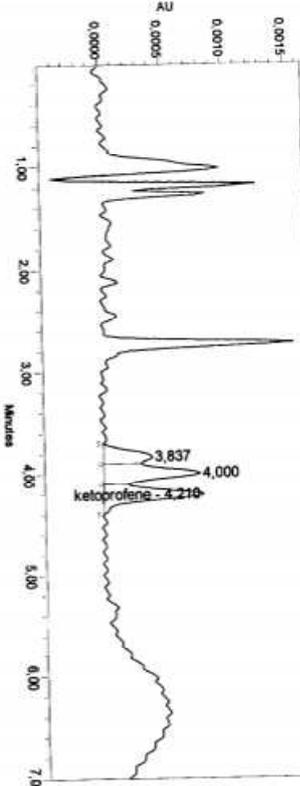


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Palle Count
1	3,829	2328	2,828510e+000	
2	4,000	5811	3,000349e+000	4,811963e+003
3	ketopropfene	4,213	3,213152e+000	7,296333e+003

Point de prélèvement : Point de prélèvement : Aire du pic de kétoprofène = 6085  
Flexible de conditionnement

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



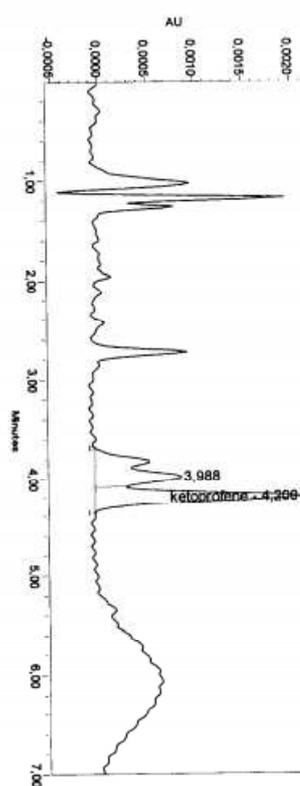
Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Palle Count	
1	3,837	3018	2,836801e+000		
2	4,000	8154	3,000482e+000	4,859078e+003	
3	ketopropfene	4,210	6085	3,210383e+000	7,084186e+003

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène. Prélèvement par écouvillonnage, Jour 2

Point de prélèvement : Point de prélèvement : Aire du pic de kétoprofène = 15197  
Accessoires de travail

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme

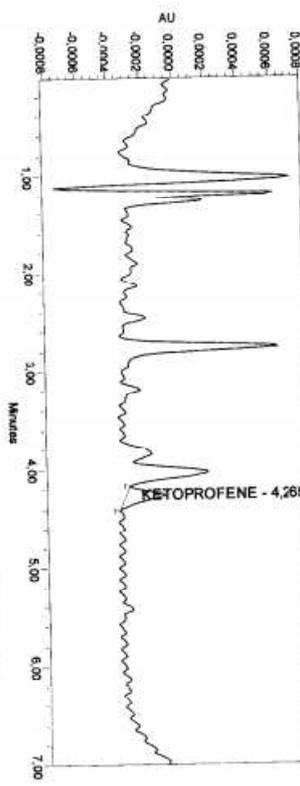


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Palle Count	
1	3,988	11407	2,987895e+000	2,388896e+002	
2	ketopropfene	4,260	15197	3,198791e+000	8,078603e+003

Point de prélèvement : Point de prélèvement : Aire du pic de kétoprofène = 1573  
Pompe de recyclage

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



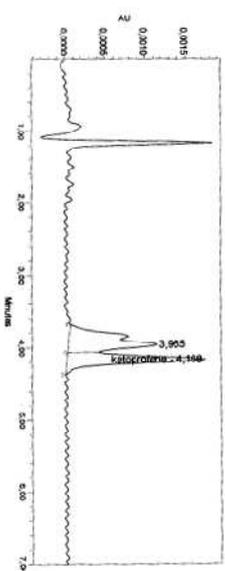
Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor	USP Palle Count	
1	KETOPROFENE	4,266	1573	3,261895e+000	1,344895e+000	8,146553e+003

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du kétoprofène: Eaux de rinçage – Jour 2

Point de prélèvement : Cuve de préparation

Type de prélèvement : Eaux de rinçage

Chromatogramme

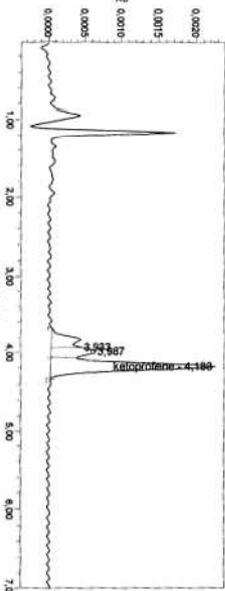


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Plate Count	
1	3.965	13078	2.967/42e+000	1.445194e+003	
2	ketoprofène	4.166	12051	3.1682729e+000	7.0763594e+003

Point de prélèvement : Pompe de transfert

Type de prélèvement : Eaux de rinçage

Chromatogramme

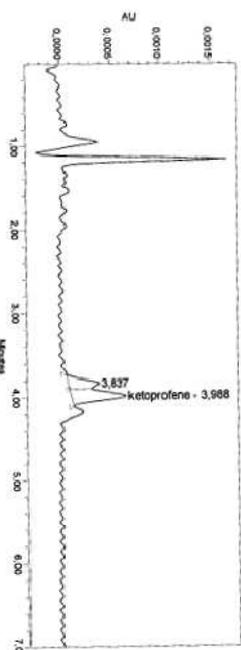


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Plate Count	
1	3.830	3369	2.833333e+000		
2	3.987	4090	2.987197e+000		
3	ketoprofène	4.188	15378	3.182596e+000	8.429811e+003

Point de prélèvement : Cuve de stockage

Type de prélèvement : Eaux de rinçage

Chromatogramme



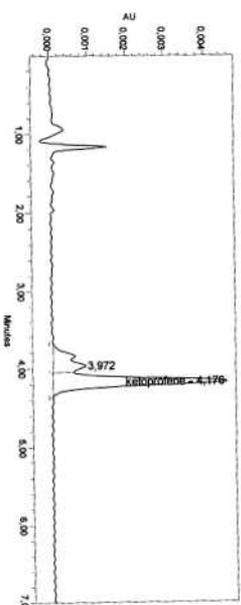
Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Plate Count	
1	3.837	2128	2.837155e+000		
2	ketoprofène	3.988	3694	2.987577e+000	5.278764e+003

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du kétoprofène: Eaux de rinçage – Jour 2

Point de prélèvement : Flexible de préparation

Type de prélèvement : Eaux de rinçage

Chromatogramme

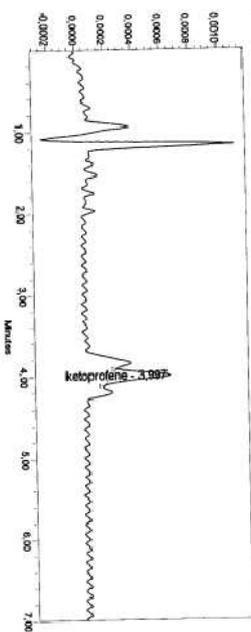


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Plate Count	
1	3.972	9895	2.971952e+000		
2	ketoprofène	4.176	31863	3.176004e+000	8.208587e+003

Point de prélèvement : Station de dosage

Type de prélèvement : Station de dosage

Chromatogramme

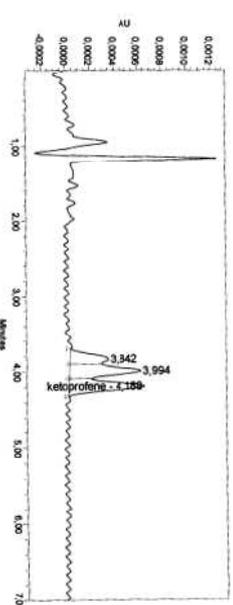


Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor	USP Plate Count	
1	ketoprofène	3.997	2270	2.998687e+000	1.174627e+000	1.071740e+004

Point de prélèvement : Flexible conditionnement

Type de prélèvement : Eaux de rinçage

Chromatogramme



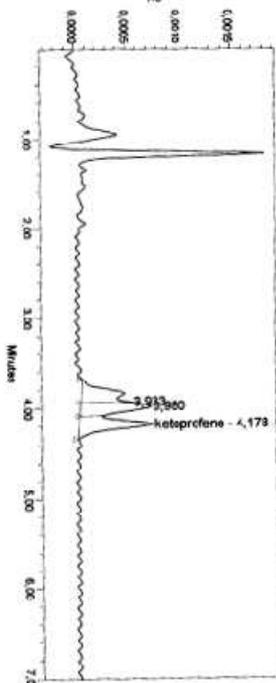
Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Plate Count	
1	3.842	2377	2.841810e+000		
2	3.994	4405	2.990777e+000	5.080062e+003	
3	ketoprofène	4.198	4598	3.187854e+000	7.599004e+003

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du kétoprofène: Eaux de rinçage – Jour 2

Point de prélèvement : accessoires de travail Aire du pic de kétoprofène = 4988

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme

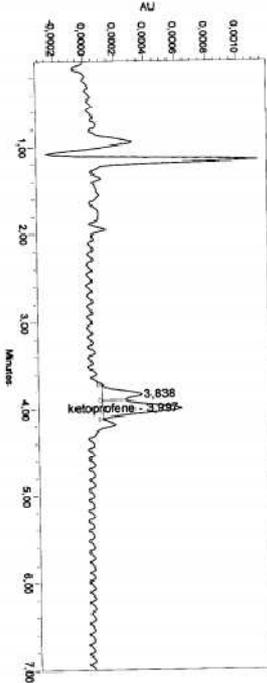


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Piste Count
1	3.933	3694	2.93333e+000	
2	3.940	4594	2.99206e+000	
3	ketoprofene	4.173	4988	3.1175391e+000

Point de prélèvement : pompe de recyclage Aire du pic de kétoprofène = 3748

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



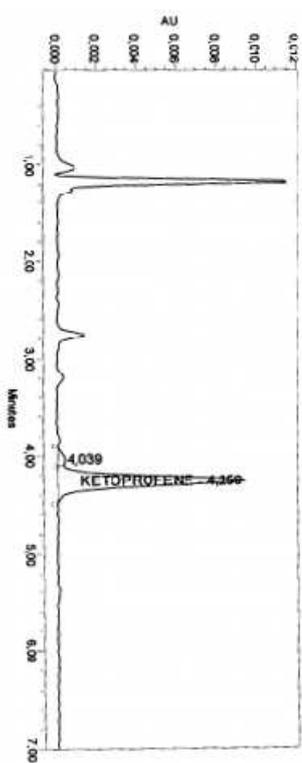
Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Piste Count
1	3.836	1584	2.837507e+000	
2	ketoprofene	3.987	3748	2.9971944e+000
				6.334831e+000

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage: Jour 3

Point de prélèvement : Cuve de préparation : Haut Aire du pic de kétoprofène = 69134 de la cuve

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

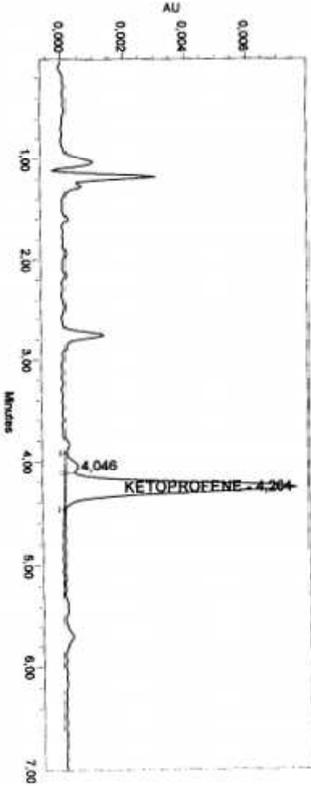


Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1	4.039	2622	3.039466e+000	
2	KETOPROFENE	4.259	69134	3.259132e+000
				9.895391e-001

Point de prélèvement : Cuve de préparation : Vanne Inférieure Aire du pic de kétoprofène = 545599

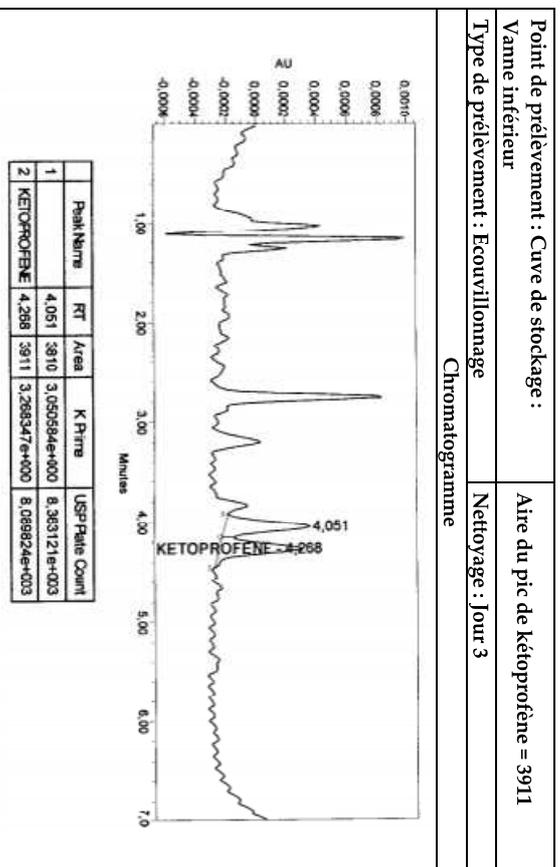
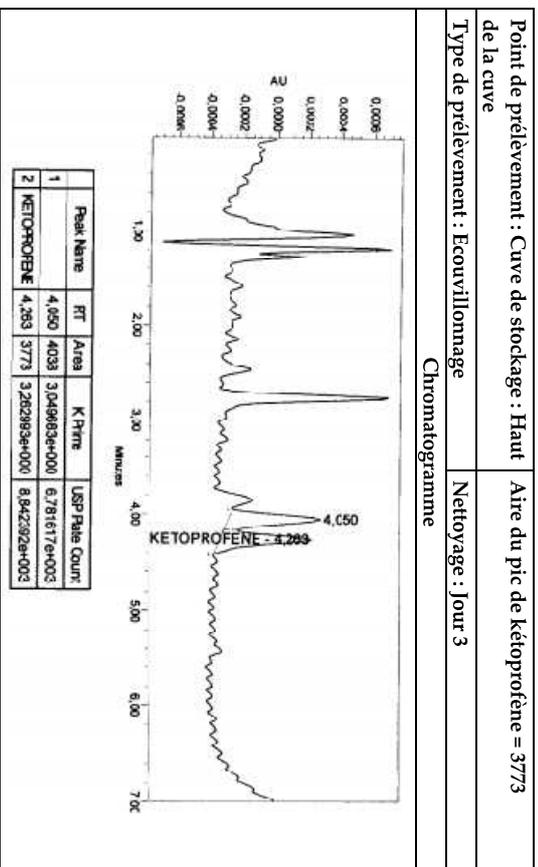
Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

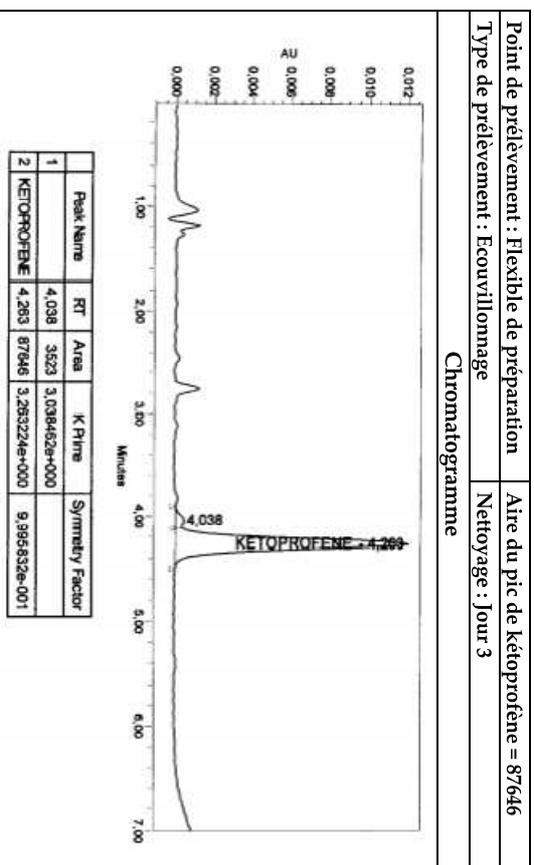
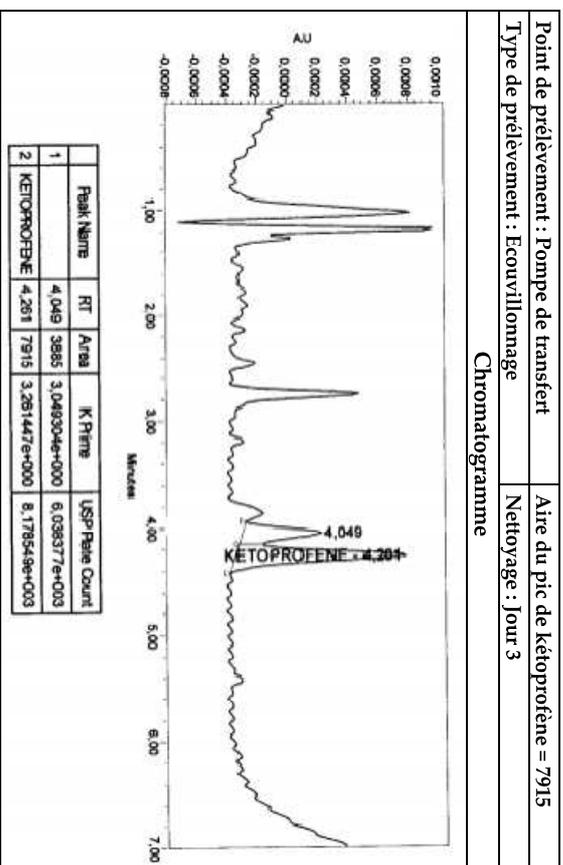


Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1	4.046	2801	3.046439e+000	
2	KETOPROFENE	4.264	54599	3.263700e+000
				9.655819e-001

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage: Jour 3



Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage: Jour 3



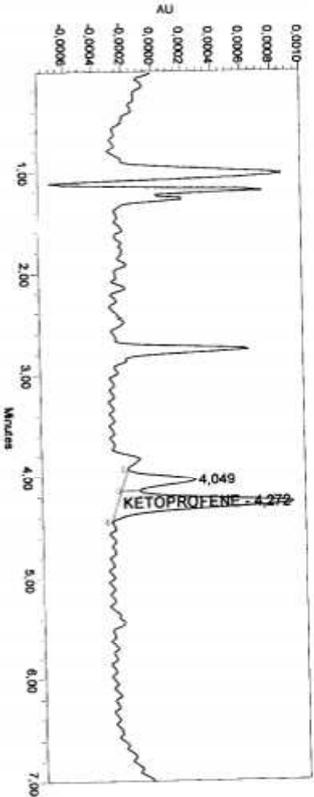
Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes  
obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par  
écouvillonnage. Jour 3

Point de prélèvement : Station de dosage -  
Injecteurs

Aire du pic de kétoprofène = 8495

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



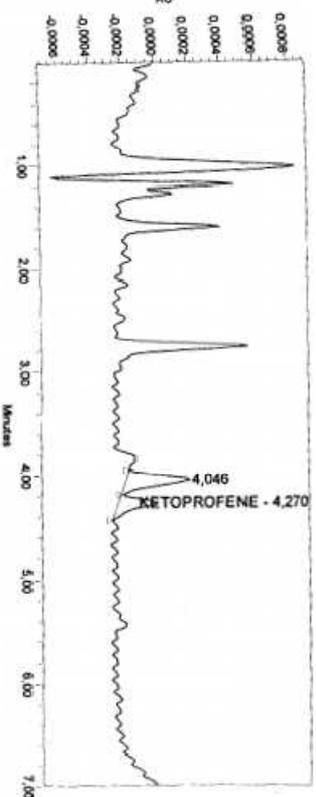
Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pate Count
1	4.049	3288	3.048427e+000	7.280348e+003
2	KETOPROFENE 4.272	8495	3.272405e+000	8.842253e+003

Point de prélèvement : Point de prélèvement :  
Station de dosage - chambre

Aire du pic de kétoprofène = 1514

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor	USP Pate Count
1	4.046	2814	3.046248e+000	1.285532e+000	6.812033e+003
2	KETOPROFENE 4.270	1514	3.289804e+000		1.063115e+004

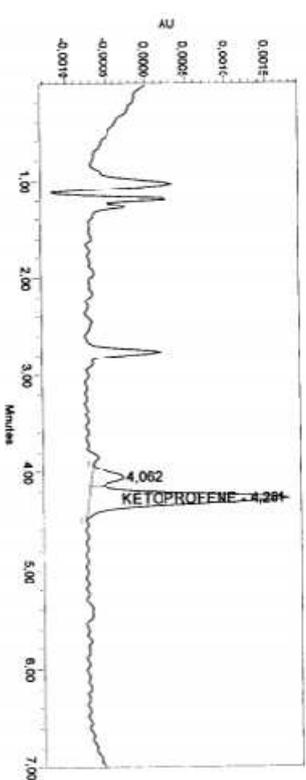
Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes  
obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par  
écouvillonnage. Jour 3

Point de prélèvement : Point de prélèvement :  
Station de dosage - clapets

Aire du pic de kétoprofène = 18199

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



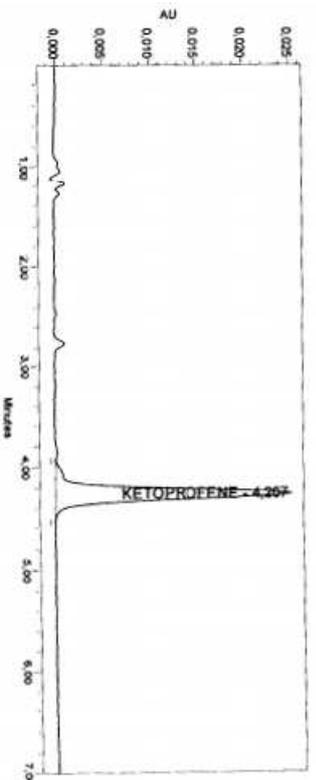
Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pate Count
1	4.062	3080	3.082112e+000	6.416852e+003
2	KETOPROFENE 4.281	18199	3.281272e+000	8.139888e+003

Point de prélèvement : Point de prélèvement :  
Flexible de conditionnement

Aire du pic de kétoprofène = 189219

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



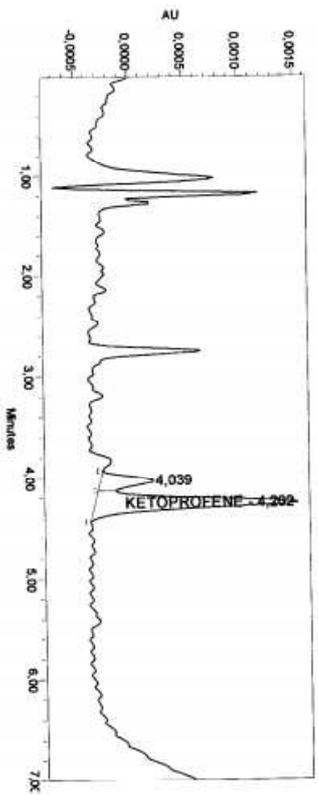
Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor
1	KETOPROFENE 4.267	189219	3.281272e+000	9.817788e+001

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions échantillons du kétoprofène – Prélèvement par écouvillonnage. Jour 3

Point de prélèvement : Point de prélèvement : Aire du pic de kétoprofène = 13165

Accessoires de travail : Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

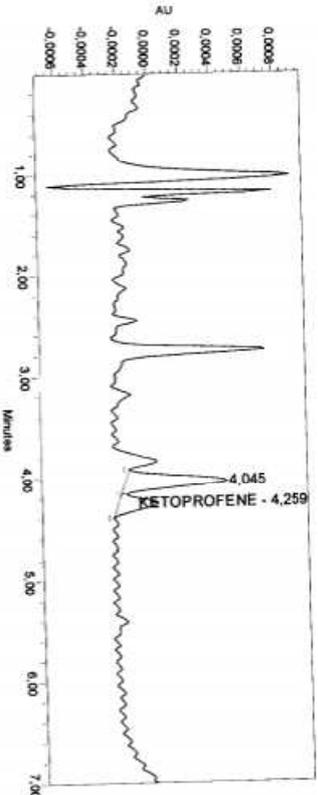


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	4.039	3282	3.038931e+000	6.379377e+003
2	KETOPROFENE 4.262	13165	3.262235e+000	6.469727e+003

Point de prélèvement : Point de prélèvement : Aire du pic de kétoprofène = 1885

Pompe de recyclage : Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



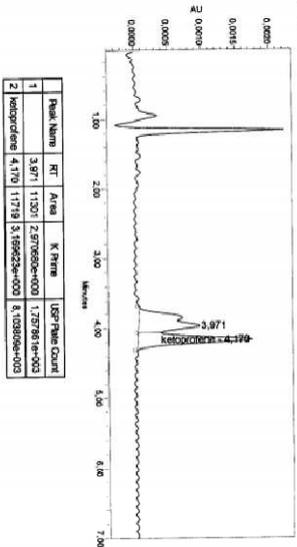
Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	4.045	4683	3.045368e+000	7.061215e+003
2	KETOPROFENE 4.259	1885	3.259453e+000	7.090029e+003

Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du kétoprofène. Eaux de rinçage – Jour 3.

Point de prélèvement : Cuve de préparation : Aire du pic de kétoprofène = 11719

Type de prélèvement : Eaux de rinçage : Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

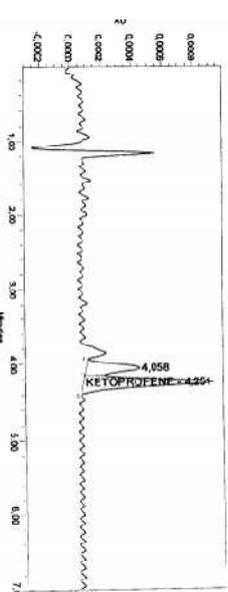


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	3.971	11301	2.97062e+000	1.727811e+003
2	Ketoprofene 4.179	11719	3.18922e+000	8.103808e+003

Point de prélèvement : Pompe de transfert : Aire du pic de kétoprofène = 5769

Type de prélèvement : Eaux de rinçage : Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

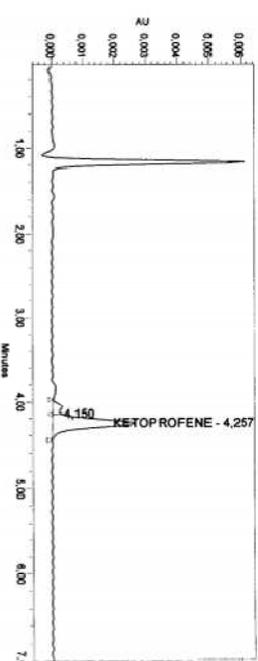


Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	4.058	2381	3.058281e+000	5.994518e+003
2	KETOPROFENE 4.251	5769	3.250709e+000	6.527396e+003

Point de prélèvement : Cuve de stockage : Aire du pic de kétoprofène =

Type de prélèvement : Eaux de rinçage : Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	USP Pile Count
1	4.150	2271	3.150000e+000	6.444235e+003
2	KETOPROFENE 4.257	18331	3.258735e+000	8.444235e+003

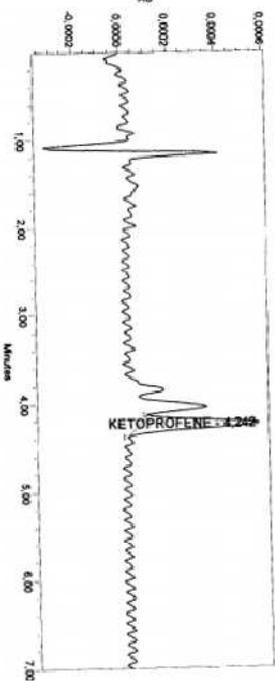
Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes

obtenus à partir des solutions du kétoprofène. Eaux de rinçage – Jour 3.

Point de prélèvement : Flexible de préparation Aire du pic de kétoprofène = 3356

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

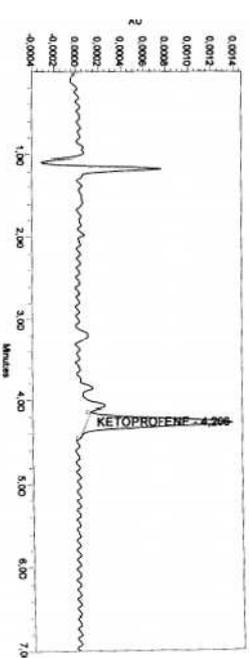


Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor	USP Pains Count
1 KETOPROFENE	4.242	3356	3.242100e+000	1.117744e+000	8.850560e+003

Point de prélèvement : Station de dosage Aire du pic de kétoprofène = 8569

Type de prélèvement : Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

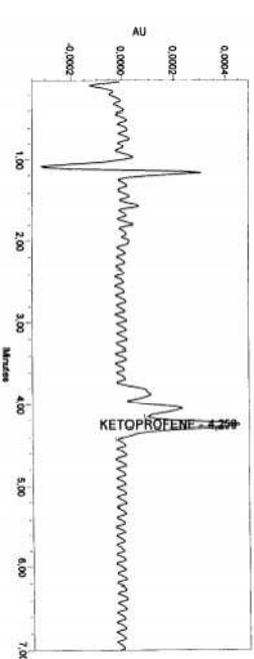


Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor	USP Pains Count
1 KETOPROFENE	4.268	8569	3.268550e+000	1.033881e+000	8.883437e+003

Point de prélèvement : Flexible de conditionnement Aire du pic de kétoprofène = 2391

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor	USP Pains Count
1 KETOPROFENE	4.291	2391	3.258477e+000	1.384626e+000	1.194498e+004

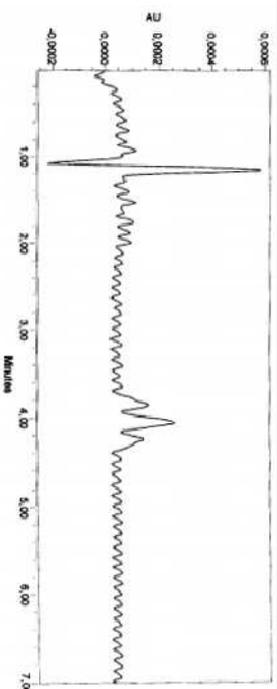
Annexe III : Validation de nettoyage de la ligne suppositoire – Chromatogrammes

obtenus à partir des solutions du kétoprofène. Eaux de rinçage – Jour 3.

Point de prélèvement : pompe de recyclage Aire du pic de kétoprofène = pic non détecté

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

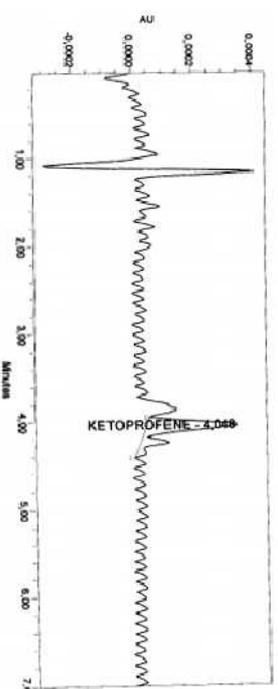


Peak Name	RT
1 KETOPROFENE	4.220

Point de prélèvement : accessoires de travail Aire du pic de kétoprofène = 2695

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	K Prime	Symmetry Factor	USP Pains Count
1 KETOPROFENE	4.068	2695	3.048443e+000	2.428890e+000	7.248607e+003

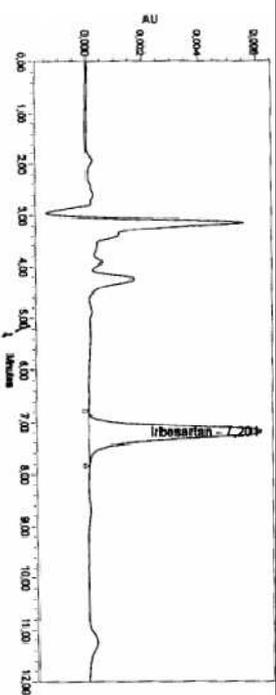
# **Annexe IV**

**Données brutes (chromatogrammes) : Validation  
de nettoyage de la ligne des formes sèches -  
Comprimés**

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'ibuprofène – Gamme standard – Jour 1

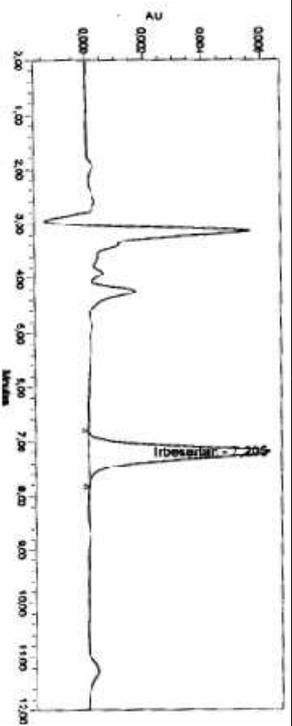
Nom : standard 50% Injection 1

Chromatogramme



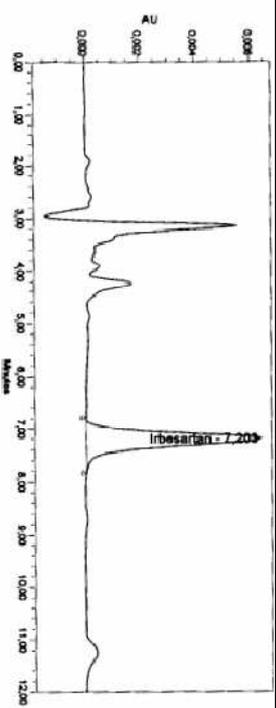
Nom : standard 50% Injection 2

Chromatogramme



Nom : standard 50% Injection 3

Chromatogramme

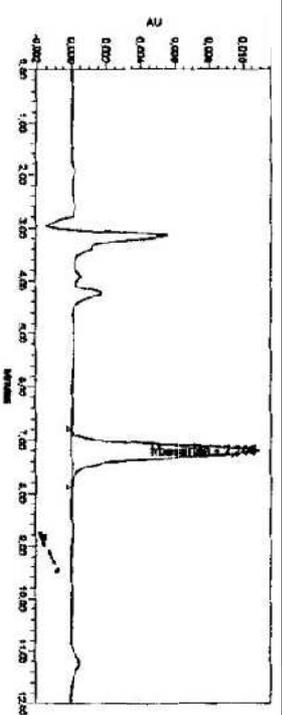


LXXXV

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'ibuprofène – Gamme standard – Jour 1

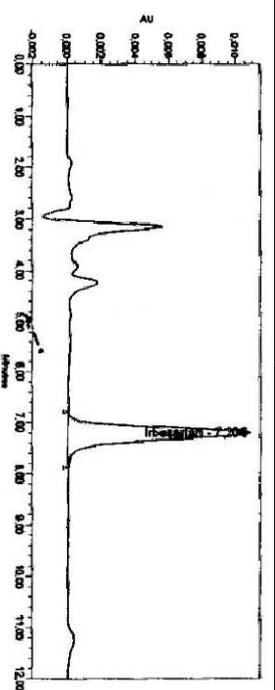
Nom : standard 100% injection 1

Chromatogramme



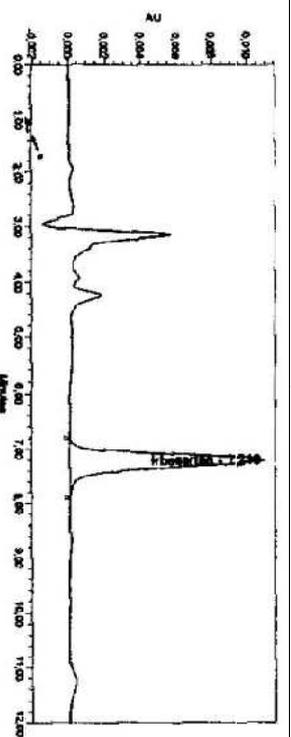
Nom : standard 100% injection 2

Chromatogramme



Nom : standard 100% injection 3

Chromatogramme



LXXXVI

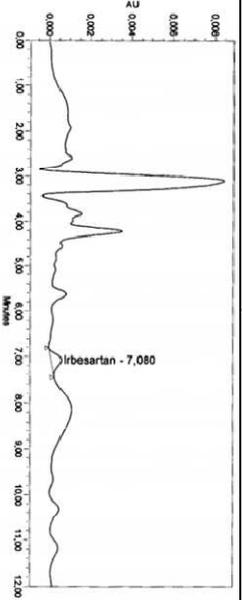


Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 1

Point de prélèvement : Granulateur - Vanne  
Aire du pic d'irbesartan = 9257

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

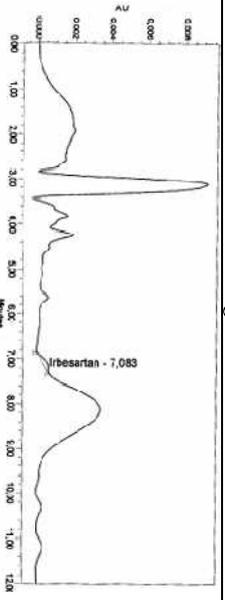


Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7.080	9257	100.00	519

Point de prélèvement : Sécheur - Parois  
Aire du pic d'irbesartan = 3967

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

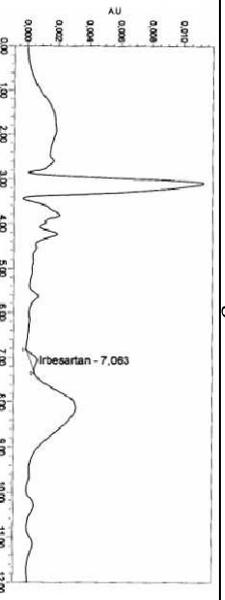


Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7.083	3967	100.00	201

Point de prélèvement : Sécheur - Fond  
Aire du pic d'irbesartan = 6904

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7.083	6904	100.00	459

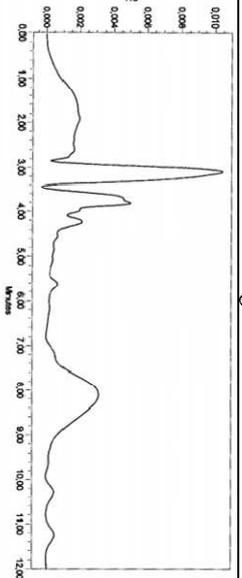
LXXXIX

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 1

Point de prélèvement : Sécheur - Sortie  
Aire du pic d'irbesartan = Pic non détecté

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

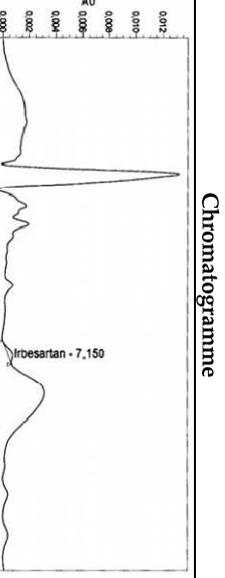


Peak Name	RT
1 Irbesartan	7.205

Point de prélèvement : Concasseur – conduite supérieure.  
Aire du pic d'irbesartan = 5212

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

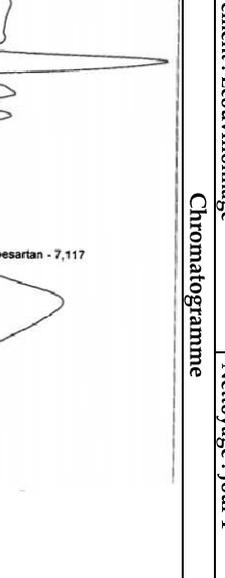


Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7.150	5212	100.00	365

Point de prélèvement : Concasseur – Parois  
Aire du pic d'irbesartan = 3085

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme



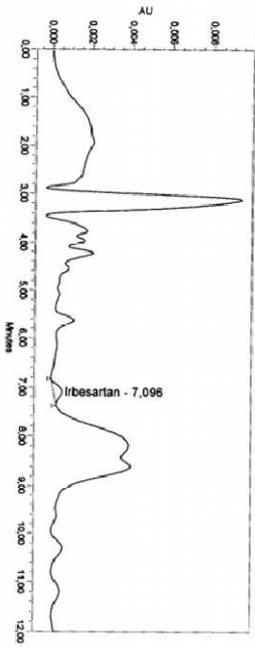
Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7.117	3085	100.00	210

XC

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – jour 1

Point de prélèvement : Concasseur – Couteaux      Aire du pic d'irbesartan = 7321  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage      Nettoyage : jour 1

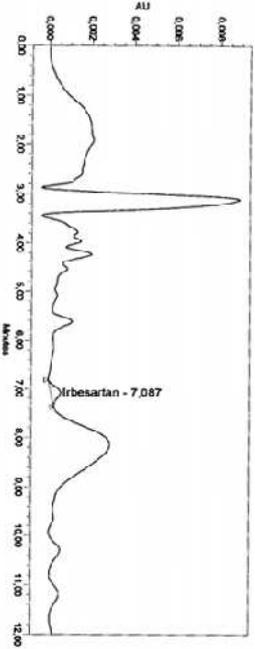
**Chromatogramme**



Point de prélèvement : Vibreur – Parois      Aire du pic d'irbesartan = 8055

Type de prélèvement : Ecouvillonnage      Nettoyage : jour 1

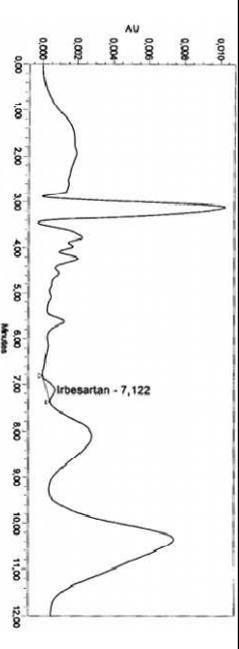
**Chromatogramme**



Point de prélèvement : Vibreur – Sortie      Aire du pic d'irbesartan = 8184

Type de prélèvement : Ecouvillonnage      Nettoyage : jour 1

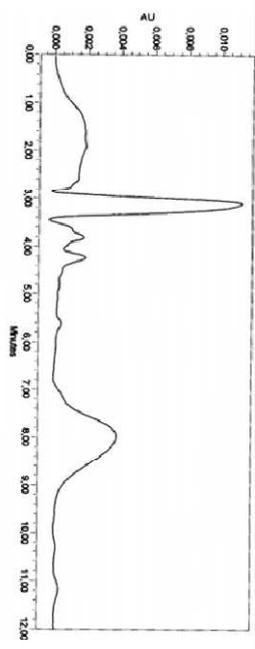
**Chromatogramme**



Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – jour 1

Point de prélèvement : Mélangeur – Agitateur.      Aire du pic d'irbesartan = Pic non détecté  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage      Nettoyage : jour 1

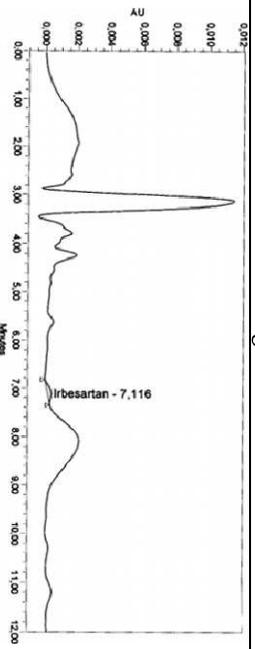
**Chromatogramme**



Point de prélèvement : Mélangeur – Côté.      Aire du pic d'irbesartan = 3889

Type de prélèvement : Ecouvillonnage      Nettoyage : jour 1

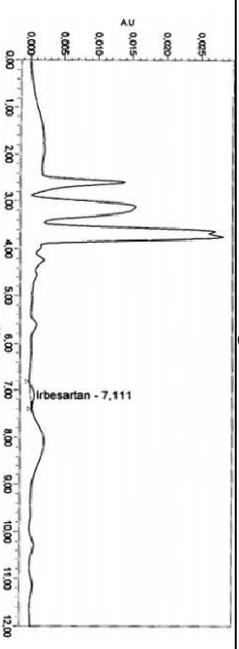
**Chromatogramme**



Point de prélèvement : Élévateur mobile – Côté.      Aire du pic d'irbesartan = 8063

Type de prélèvement : Ecouvillonnage      Nettoyage : jour 1

**Chromatogramme**



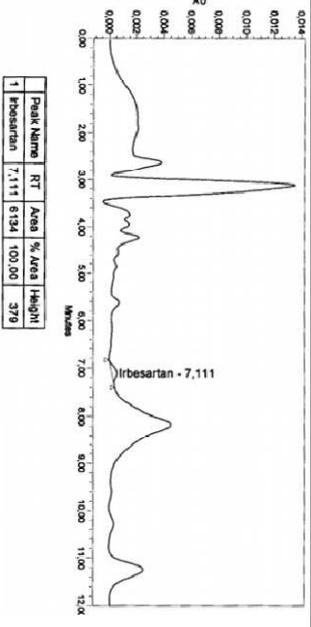
Point de prélèvement : Elévateur mobile – Sortie      Aire du pic d'irbesartan = 6134

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 1

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

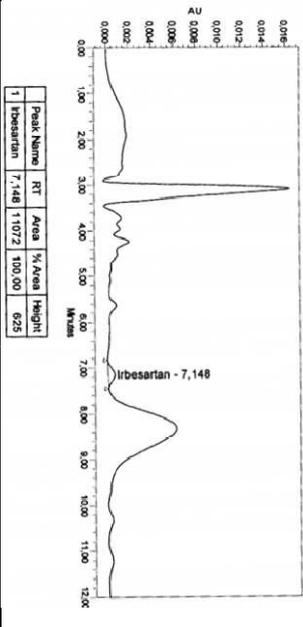


Point de prélèvement : Chariot

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

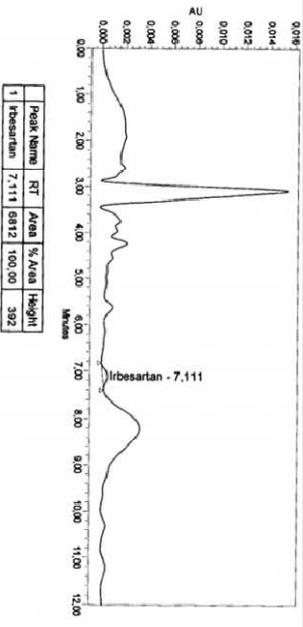


Point de prélèvement : Flexible d'alimentation de poudres

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

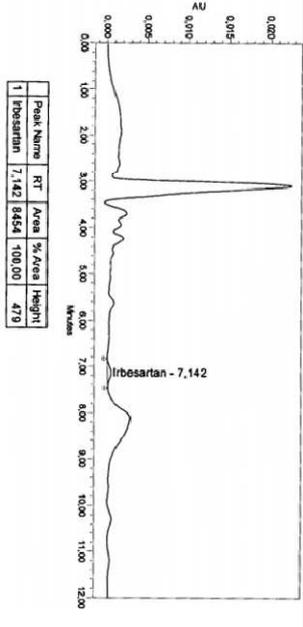


Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 1

Type de prélèvement : Tamineur - Bas

Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

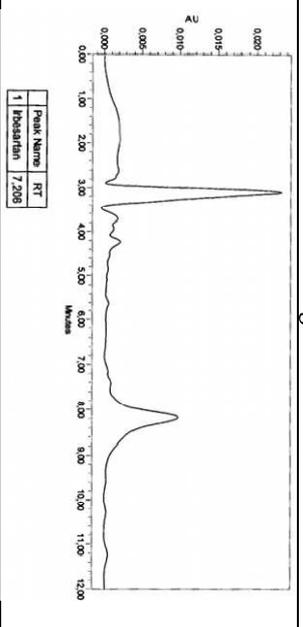


Point de prélèvement : Tamineur – Sortie

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme



Aire du pic d'irbesartan = Pic non détecté

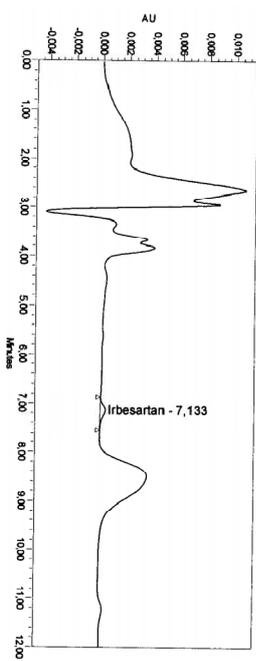
Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes

obtenus à partir des solutions du d'Irbesartan – Eaux de rinçage – Jour 1

Point de prélèvement : Granulateur Aire du pic d'Irbesartan = 6178

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme-

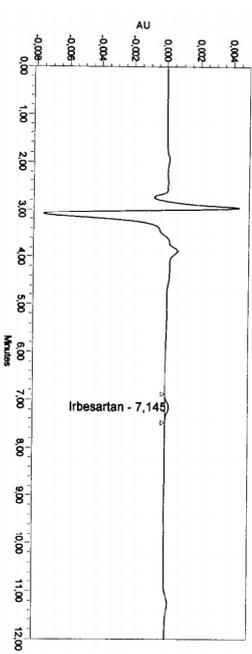


Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7,133	6178	100,00	387

Point de prélèvement : Sécheur Aire du pic d'Irbesartan = 3814

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

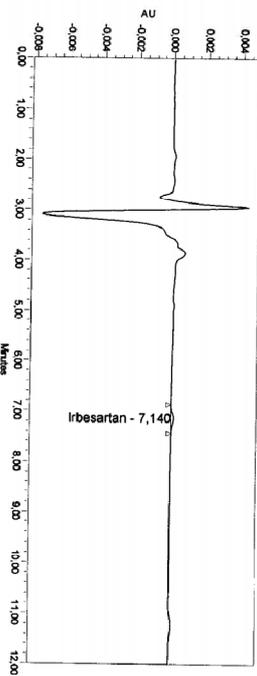


Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7,145	3814	100,00	239

Point de prélèvement : Concasseur Aire du pic d'Irbesartan = 2373

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7,140	2373	100,00	154

XCV

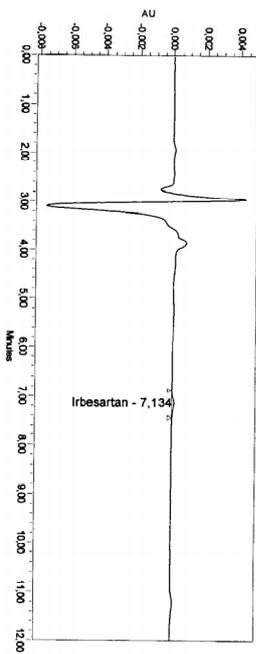
Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes

obtenus à partir des solutions du d'Irbesartan – Eaux de rinçage – Jour 1

Point de prélèvement : Vibreur Aire du pic d'Irbesartan = 2453

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

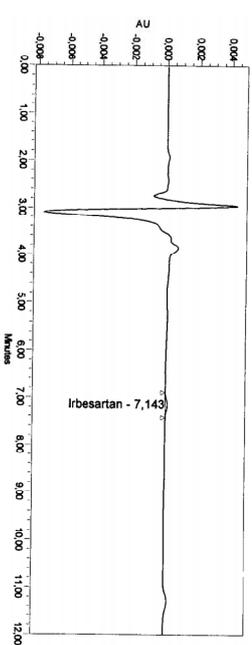


Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7,134	2453	100,00	159

Point de prélèvement : Mélangeur Aire du pic d'Irbesartan = 1941

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

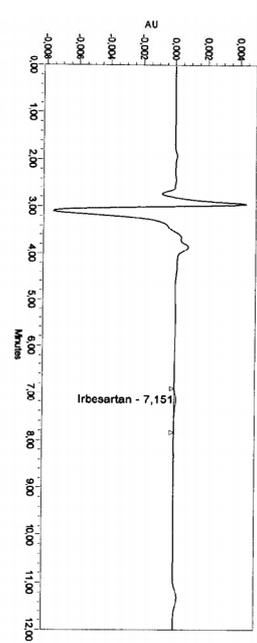


Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7,143	1941	100,00	123

Point de prélèvement : Élévateur mobile Aire du pic d'Irbesartan = 2671

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme



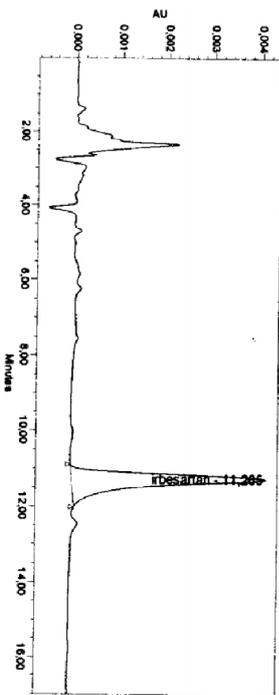
Peak Name	RT	Area	%Area	Height
1 Irbesartan	7,151	2671	100,00	142

XCVI

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'ibesartan – Gamme standard – Jour 2

Nom : standard 50% Injection 1

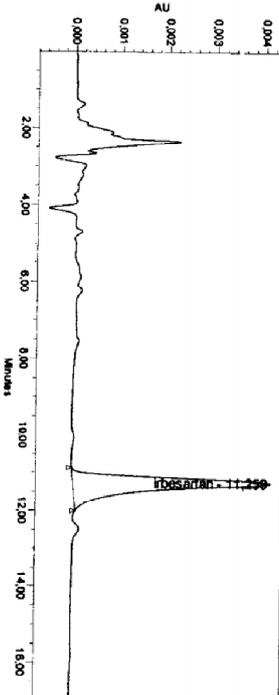
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Ibesartan	11,265	87087	100,00	4198

Nom : standard 50% Injection 2

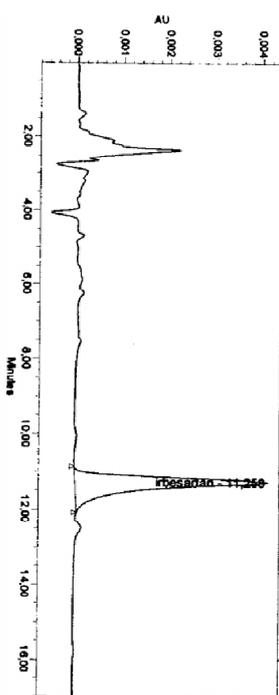
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Ibesartan	11,259	86750	100,00	4188

Nom : standard 50% Injection 3

Chromatogramme

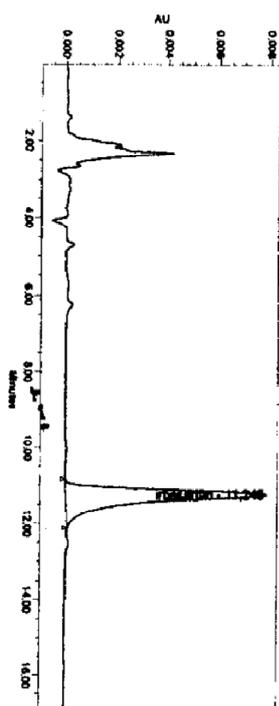


Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Ibesartan	11,266	87982	100,00	4192

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'ibesartan – Gamme standard – Jour 2

Nom : standard 100% injection 1

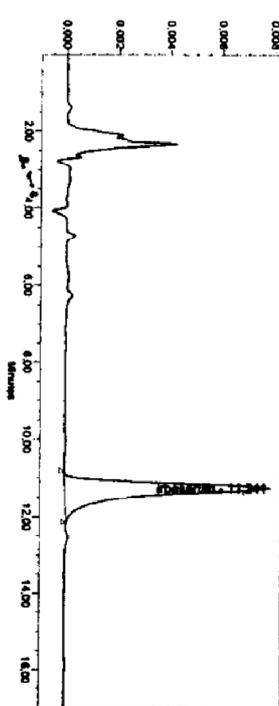
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Ibesartan	11,246	168144	100,00	7889

Nom : standard 100% injection 2

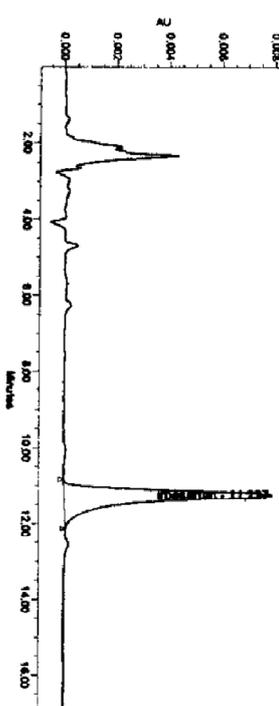
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Ibesartan	11,241	168253	100,00	7883

Nom : standard 100% injection 3

Chromatogramme

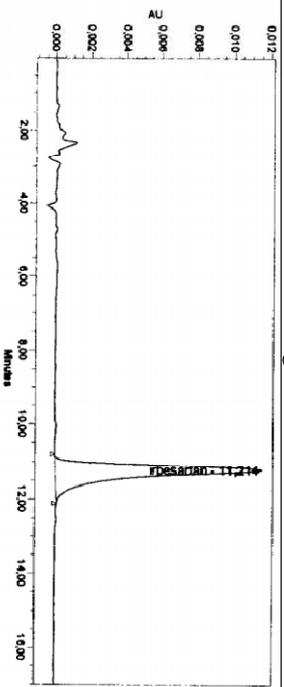


Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Ibesartan	11,227	167001	100,00	7913

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Gamme standard – Jour 2

nom : standard 150% injection 1

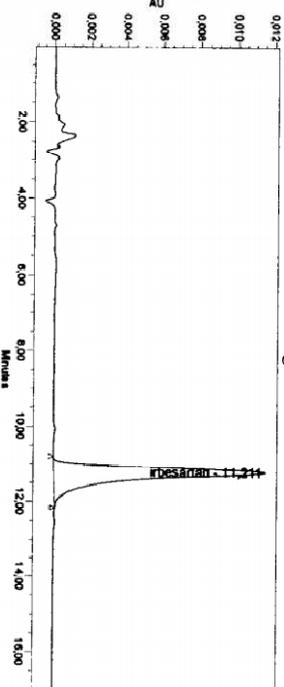
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	11.214	243772	100.00	11521

Nom : standard 150% injection 2

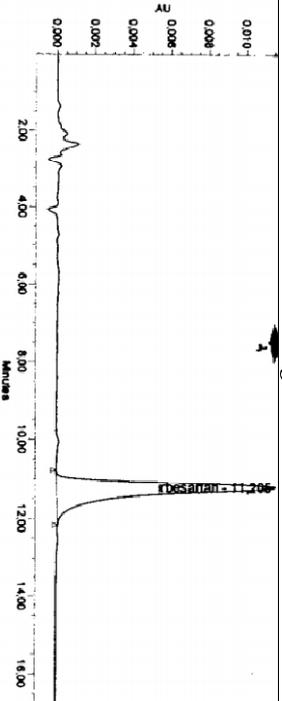
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	11.211	244998	100.00	11555

Nom : standard 150% injection 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	11.205	245156	100.00	11552

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 2

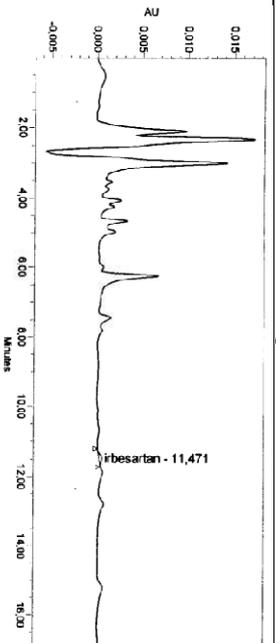
Point de prélèvement : Granulateur - Couteaux

Aire du pic d'irbesartan = 10196

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme-



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	11.471	1447	100.00	338

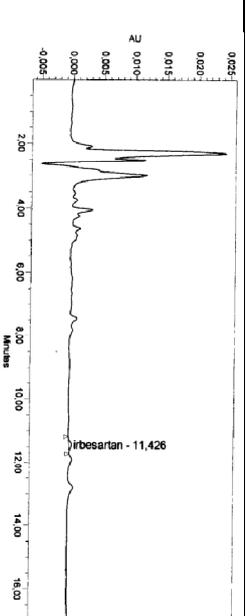
Point de prélèvement : Granulateur - Parois

Aire du pic d'irbesartan = 6155

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	11.426	6155	100.00	443

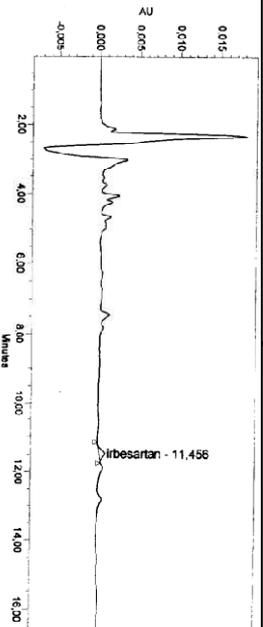
Point de prélèvement : Granulateur - Agitateur

Aire du pic d'irbesartan = 9292

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



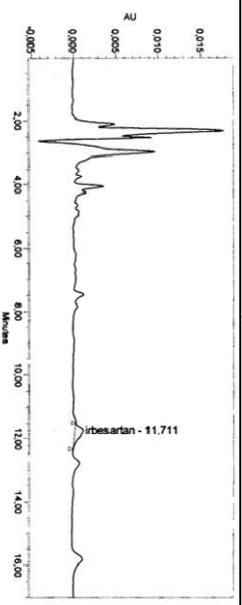
Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	11.456	5292	100.00	680

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 2

Point de prélèvement : Granulateur - Vanne  
Aire du pic d'irbesartan = 24215

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 2

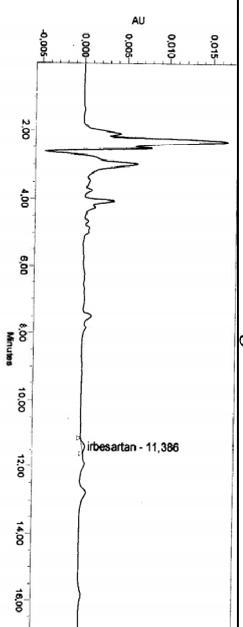
Chromatogramme



Point de prélèvement : Concasseur – conduite supérieure.  
Aire du pic d'irbesartan = 5123

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 2

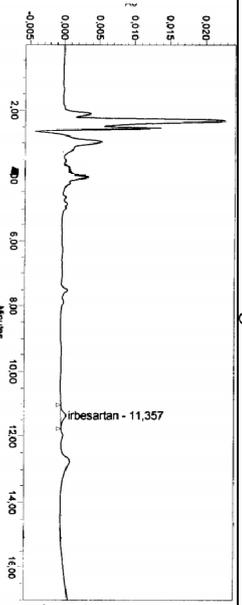
Chromatogramme



Point de prélèvement : Concasseur – Parois  
Aire du pic d'irbesartan = 12186

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



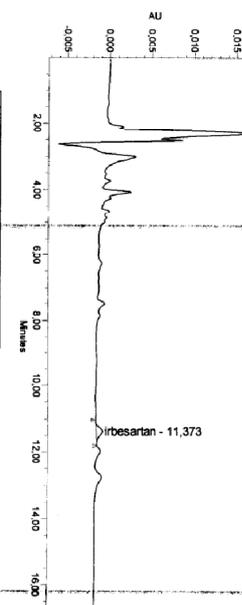
CI

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 2

Point de prélèvement : Concasseur – Couteaux  
Aire du pic d'irbesartan = 11886

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 2

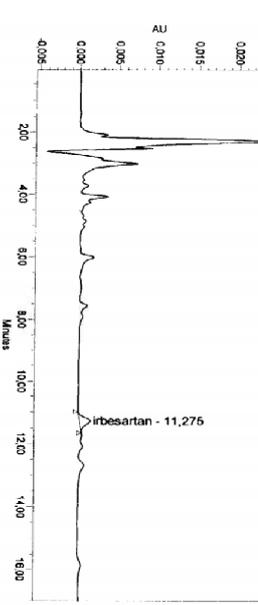
Chromatogramme



Point de prélèvement : Vibreur – Parois  
Aire du pic d'irbesartan = 21078

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 2

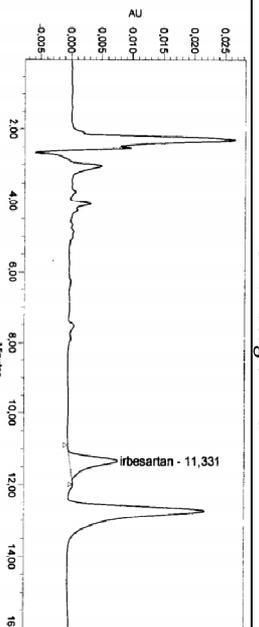
Chromatogramme



Point de prélèvement : Vibreur – Sortie.  
Aire du pic d'irbesartan = 144264

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



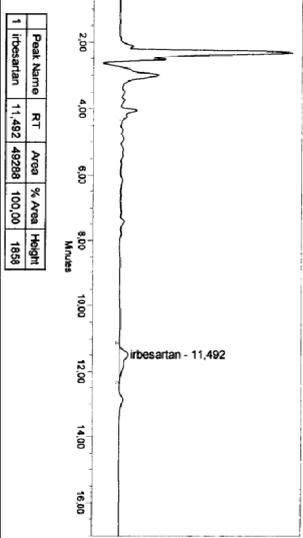
CII

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 2

Point de prélèvement : Mélangeur – Aire du pic d'irbesartan = 49288

Agitateur. Nettoyage : Jour 2

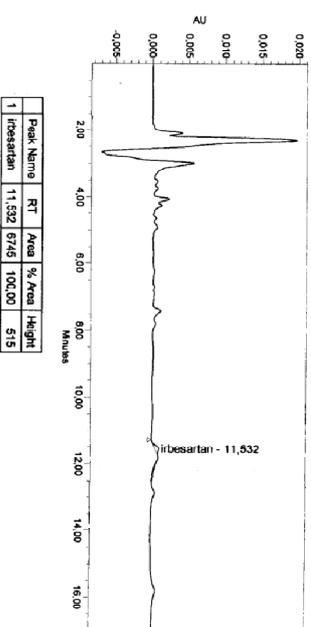
Chromatogramme



Point de prélèvement : TamisEUR - Bassin Aire du pic d'irbesartan = 6745

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

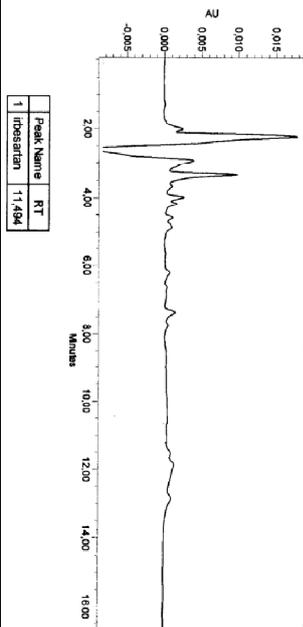
Chromatogramme



Point de prélèvement : TamisEUR - Sortie Aire du pic d'irbesartan = Pic non détecté

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme

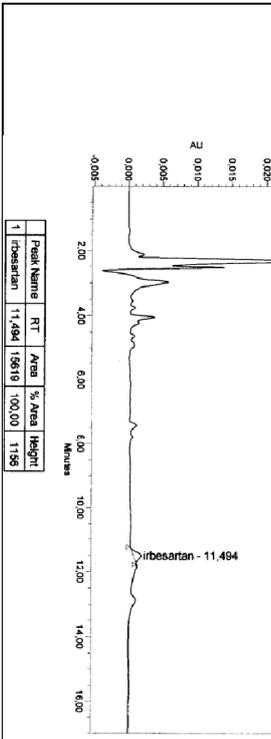


Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 2

Point de prélèvement : Mélangeur – Coté. Aire du pic d'irbesartan = 15619

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 2

Chromatogramme



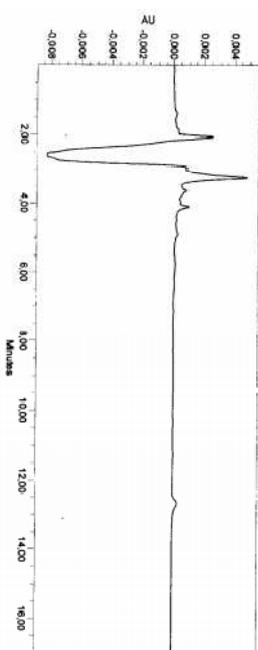
Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes

obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Eaux de rinçage – Jour 2

Point de prélèvement : Granulateur Aire du pic d'irbesartan = 6178

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 2

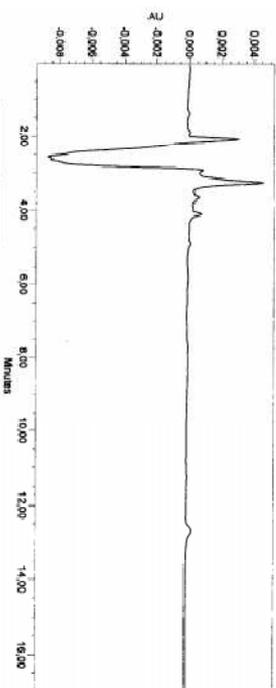
Chromatogramme-



Point de prélèvement : Concasseur

Type de prélèvement : Eaux de rinçage

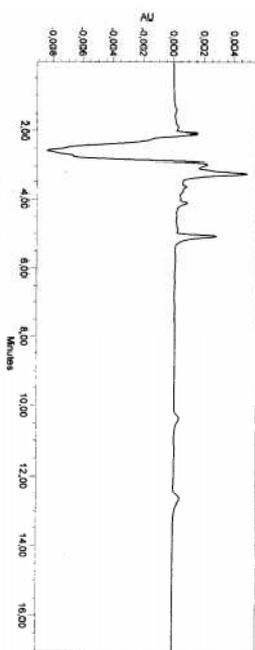
Chromatogramme



Point de prélèvement : Vibreur

Type de prélèvement : Eaux de rinçage

Chromatogramme



CV

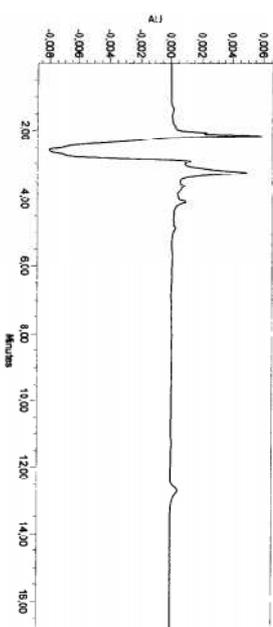
Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes

obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Eaux de rinçage – Jour 2

Point de prélèvement : Mélangeur Aire du pic d'irbesartan = 1941

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 2

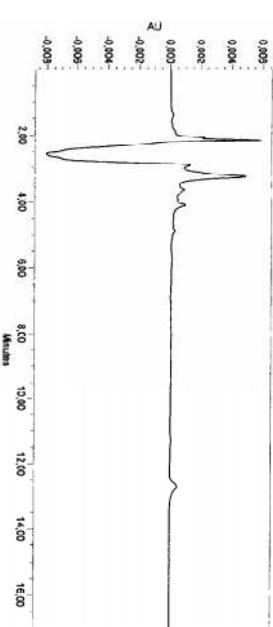
Chromatogramme



Point de prélèvement : Elevateur mobile

Type de prélèvement : Eaux de rinçage

Chromatogramme

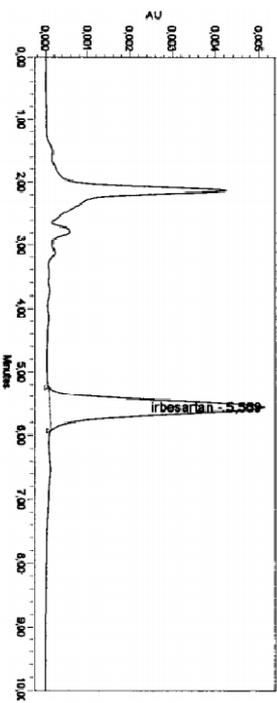


CVI

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'ibesartan – Gamme standard – Jour 3

Nom : standard 50% Injection 1

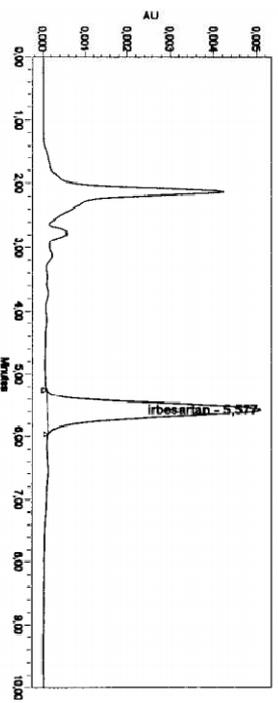
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	
1	Ibesartan	5,583	75695

Nom : standard 50% Injection 2

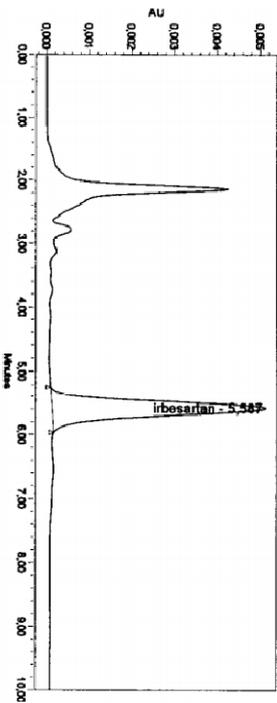
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	
1	Ibesartan	5,577	76407

Nom : standard 50% Injection 3

Chromatogramme



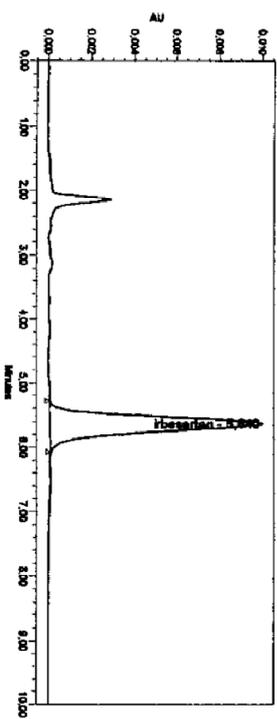
Peak Name	RT	Area	
1	Ibesartan	5,587	76683

CVII

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'ibesartan – Gamme standard – Jour 3

Nom : standard 100% injection 1

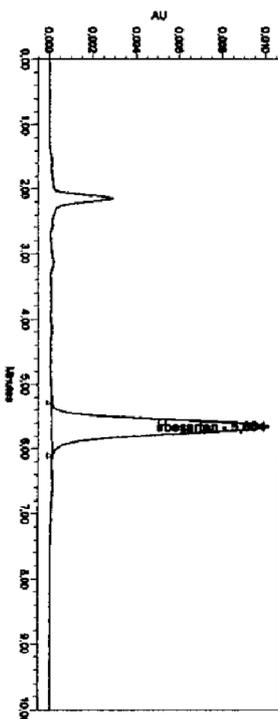
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	
1	Ibesartan	5,640	156442

Nom : standard 100% injection 2

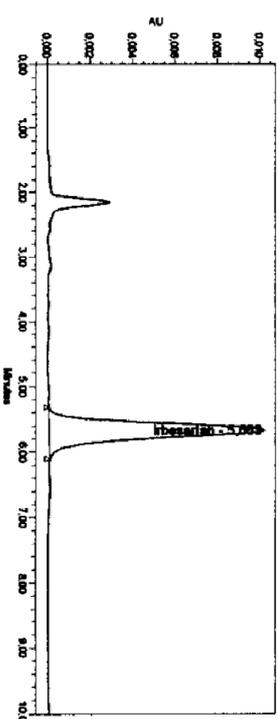
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	
1	Ibesartan	5,604	157431

Nom : standard 100% injection 3

Chromatogramme



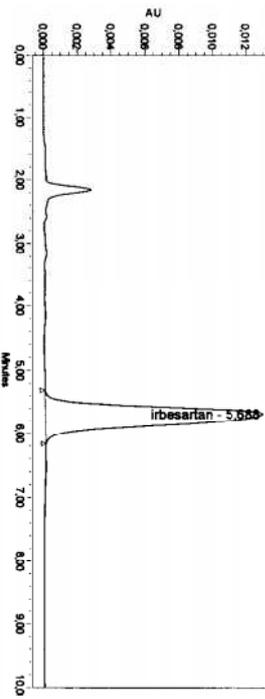
Peak Name	RT	Area	
1	Ibesartan	5,603	157223

CVIII

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Gamme standard – Jour 3

nom : standard 150% injection 1

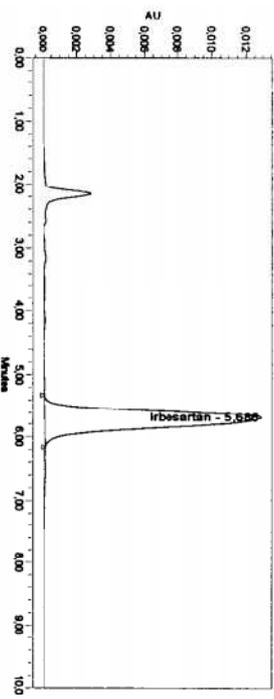
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area
1 Irbesartan	5.688	237238

Nom : standard 150% injection 2

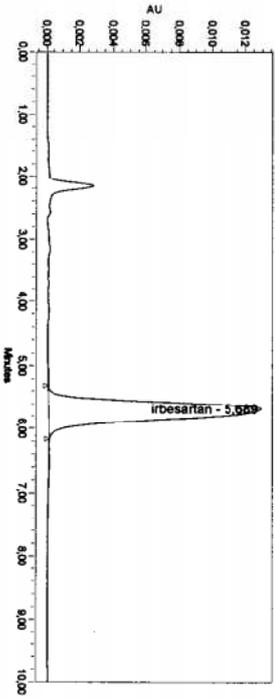
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area
1 Irbesartan	5.688	237829

Nom : standard 150% injection 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area
1 Irbesartan	5.689	238029

CIX

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 3

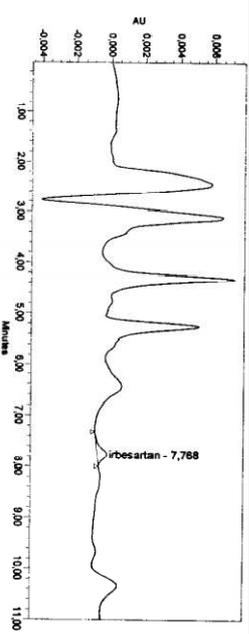
Apoint de prélèvement : Granulateur - Couteaux

Aire du pic d'irbesartan = 8801

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme-



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.768	8801	100.00	559

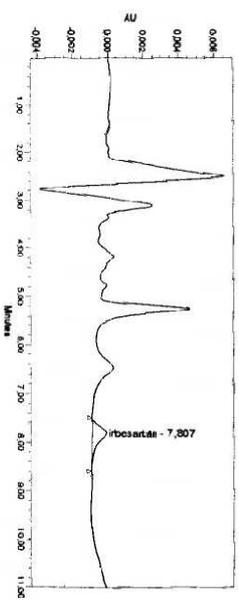
Point de prélèvement : Granulateur - Parois

Aire du pic d'irbesartan = 16585

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.807	16585	100.00	807

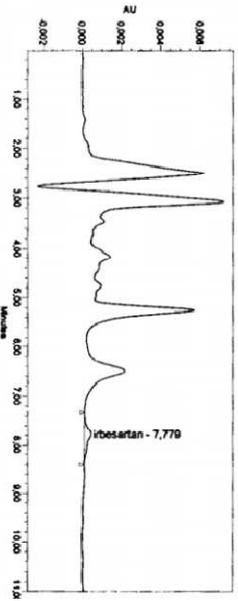
Point de prélèvement : Granulateur - Agitateur

Aire du pic d'irbesartan = 8643

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.779	8643	100.00	359

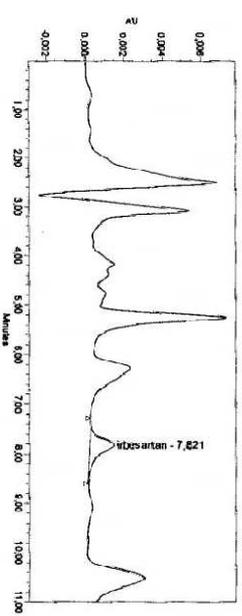
CX

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 3

Point de prélèvement : Granulateur - Vanne  
Aire du pic d'irbesartan = 29071

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

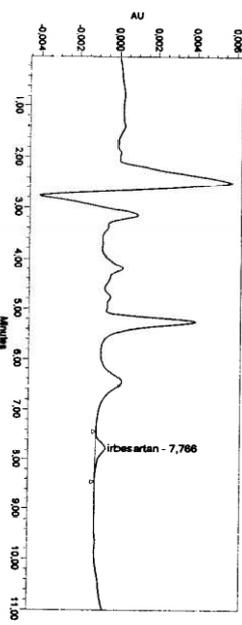
Chromatogramme



Point de prélèvement : Concasseur – conduite supérieure.  
Aire du pic d'irbesartan = 9609

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

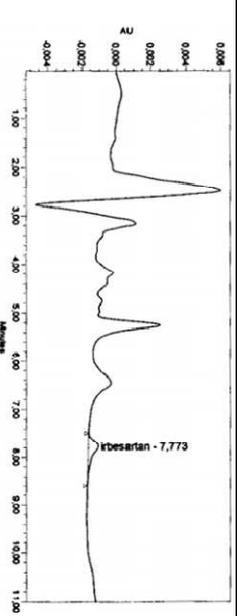
Chromatogramme



Point de prélèvement : Concasseur – Parois  
Aire du pic d'irbesartan = 13120

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

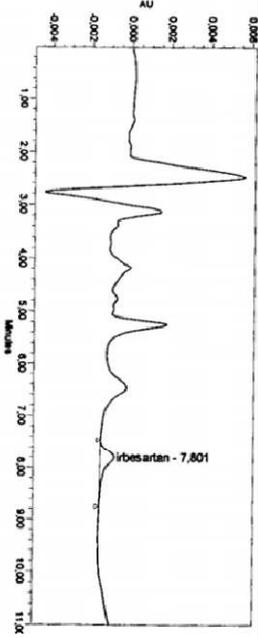


Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 3

Point de prélèvement : Concasseur – Couteaux  
Aire du pic d'irbesartan = 15894

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

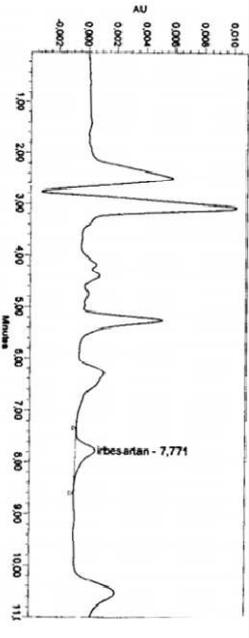
Chromatogramme



Point de prélèvement : Vibreur – Parois  
Aire du pic d'irbesartan = 30290

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

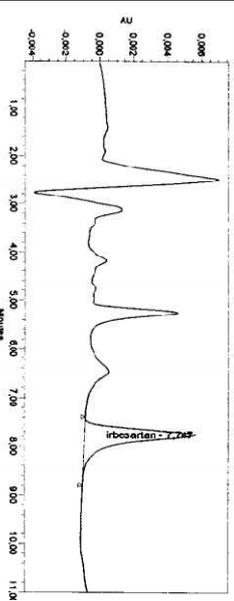
Chromatogramme



Point de prélèvement : Vibreur – Sortie.  
Aire du pic d'irbesartan = 124132

Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

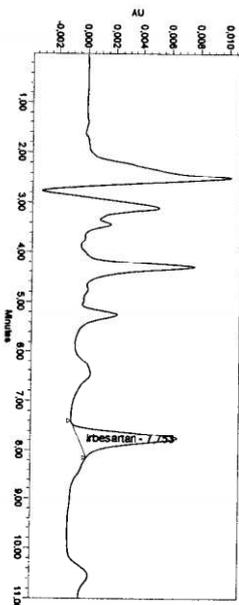


Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 3

Point de prélèvement : Mélangeur – Agitateur. Aire du pic d'irbesartan = 1116214

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

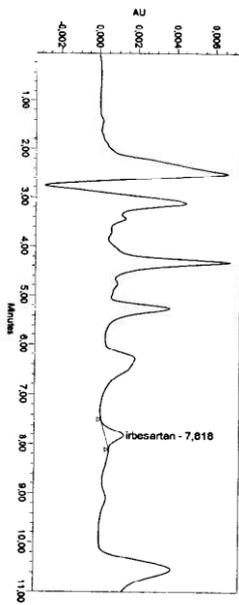


Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.753	1116214	100.00	7036

Point de prélèvement : TamisEUR - Bassin Aire du pic d'irbesartan = 14920

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

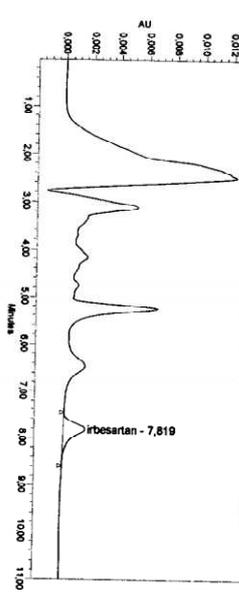


Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.818	14920	100.00	945

Point de prélèvement : TamisEUR – Sortie Aire du pic d'irbesartan = 30729

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



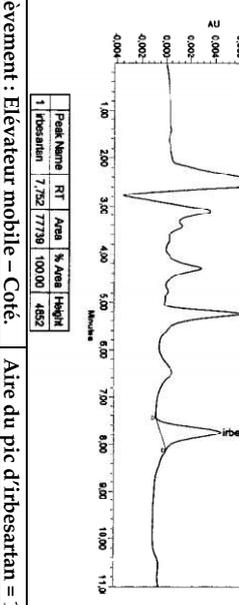
Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.819	30729	100.00	1532

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – Jour 3

Point de prélèvement : Mélangeur – Côté. Aire du pic d'irbesartan = 77739

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

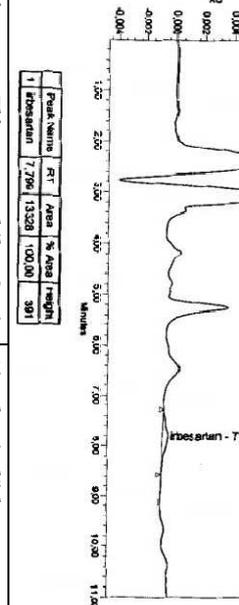


Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.752	77739	100.00	4852

Point de prélèvement : Elevateur mobile – Côté. Aire du pic d'irbesartan = 13328

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

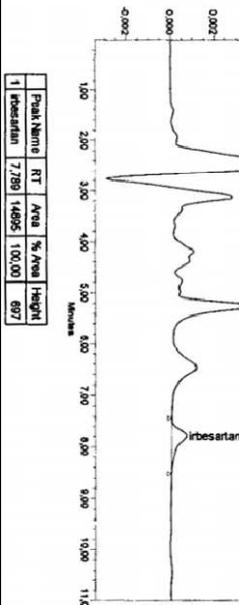


Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.796	13328	100.00	391

Point de prélèvement : Elevateur mobile – Sortie Aire du pic d'irbesartan = 14895

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



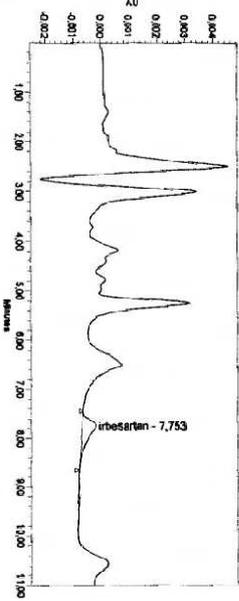
Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.789	14895	100.00	897

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – jour 3

Point de prélèvement : Chariot Aire du pic d'irbesartan = 12930

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : jour 3

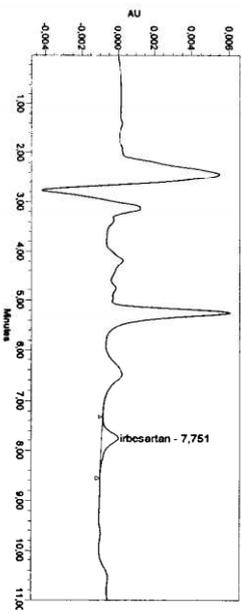
Chromatogramme



Point de prélèvement : Sécheur - Parois Aire du pic d'irbesartan = 19077

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : jour 3

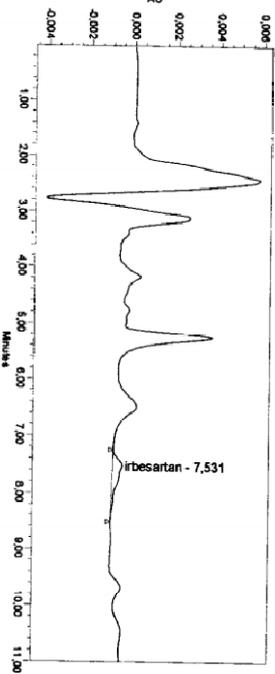
Chromatogramme



Point de prélèvement : Sécheur - Fond Aire du pic d'irbesartan = 12905

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : jour 3

Chromatogramme

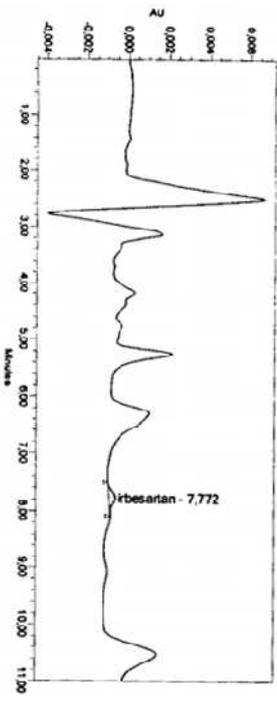


Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Prélèvement par écouvillonnage – jour 3

Point de prélèvement : Sécheur - Sortie Aire du pic d'irbesartan = 4461

Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : jour 3

Chromatogramme

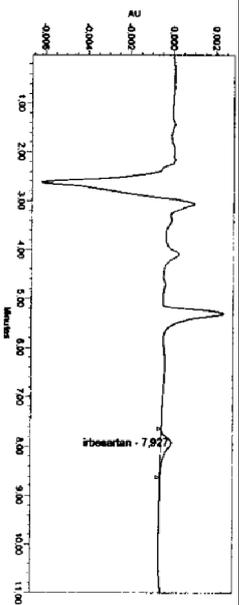


Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Eaux de rinçage – Jour 3

Point de prélèvement : Granulateur Aire du pic d'irbesartan = 9548

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme-

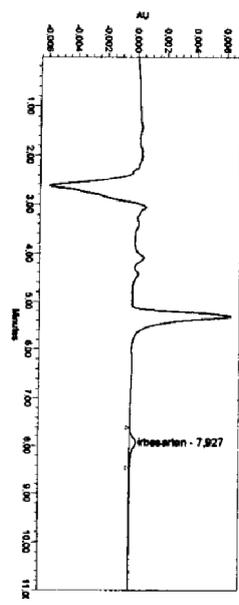


Point Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.927	9548	100.00	478

Point de prélèvement : Concasseur Aire du pic d'irbesartan = 7359

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

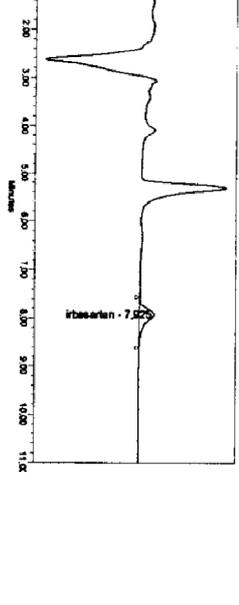


Point Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.927	7359	100.00	414

Point de prélèvement : Vibreur Aire du pic d'irbesartan = 16631

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme



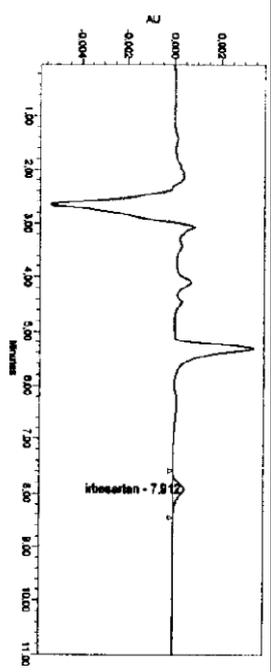
Point Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.927	16631	100.00	875

Point de prélèvement : Mélangeur Aire du pic d'irbesartan = 8267

Annexe IV : Validation de nettoyage des équipements de granulation - Chromatogrammes obtenus à partir des solutions du d'irbesartan – Eaux de rinçage – Jour 3

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

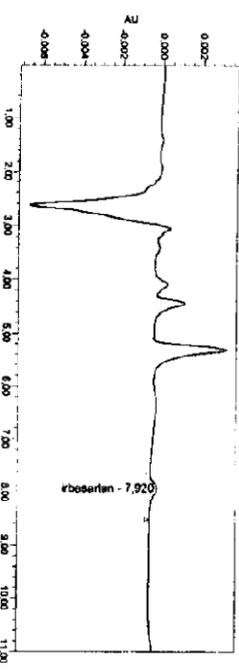


Point Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.912	8267	100.00	495

Point de prélèvement : Elevateur mobile Aire du pic d'irbesartan = 6161

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

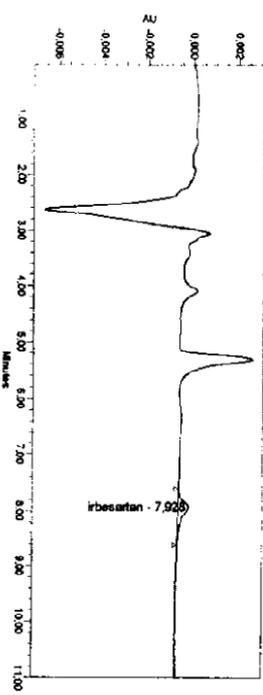


Point Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.920	6161	100.00	345

Point de prélèvement : Sécheur Aire du pic d'irbesartan = 8994

Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 3

Chromatogramme

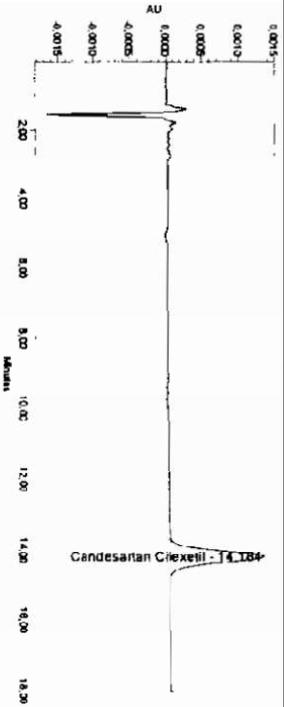


Point Name	RT	Area	% Area	Height
1 Irbesartan	7.926	8994	100.00	449

Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ibuprofène – Gamme standard – Jour 1

Nom : standard 50% Injection 1

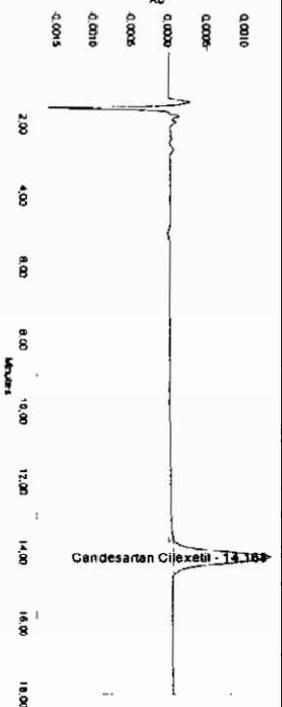
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.164	29723	100.00	1277	0.750	µg/ml

Nom : standard 50% injection 2

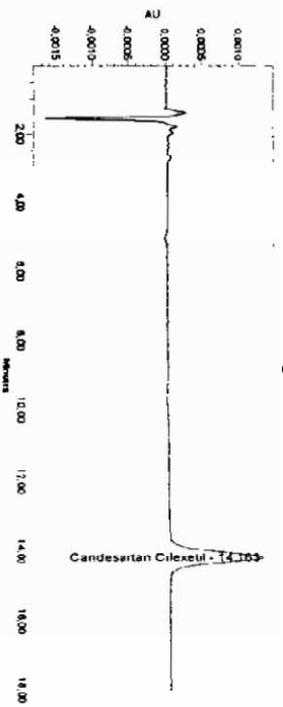
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.166	28659	100.00	1274	0.750	µg/ml

Nom : standard 50% injection 3

Chromatogramme

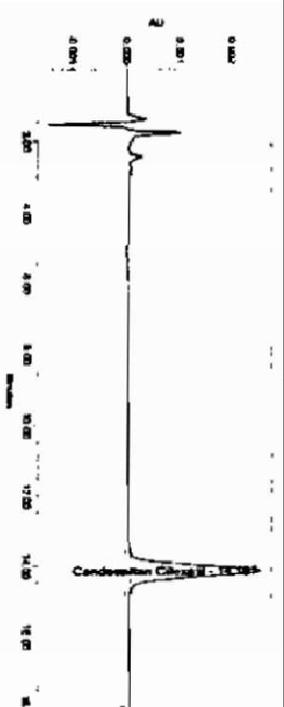


Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.163	29449	100.00	1271	0.750	µg/ml

Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ibuprofène – Gamme standard – Jour 1

Nom : standard 100% injection 1

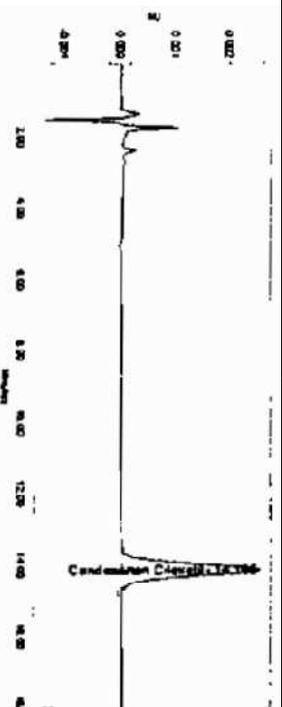
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.167	54486	100.00	2480	1.500	µg/ml

Nom : standard 100% injection 2

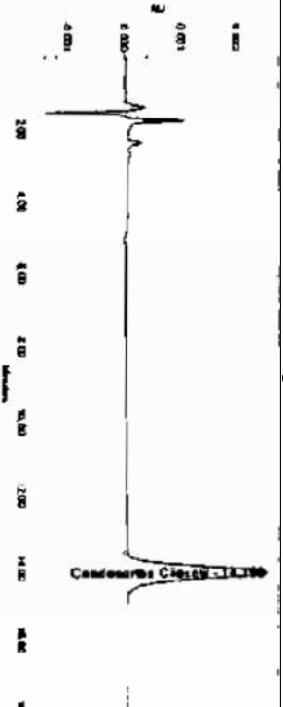
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.166	52696	100.00	2487	1.500	µg/ml

Nom : standard 100% injection 3

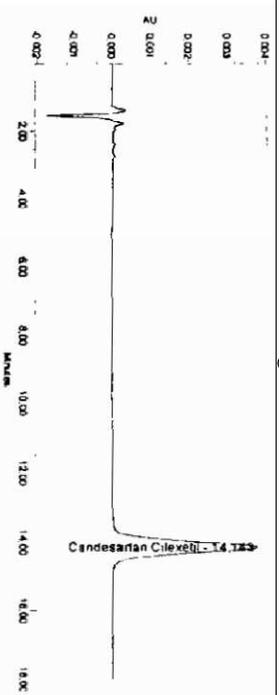
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.150	54523	100.00	2486	1.500	µg/ml

Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ribesartan – Gamme standard – Jour 1  
 nom : standard 150% injection 1

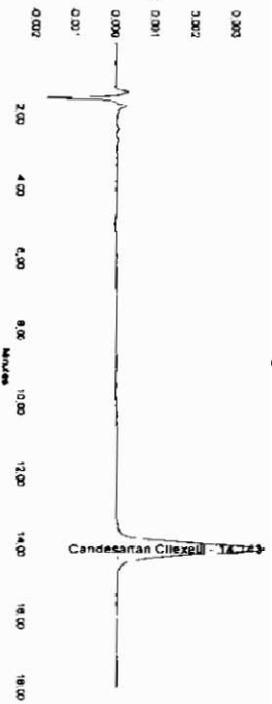
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.143	87330	100.00	3714	2.250	µg/ml

Nom : standard 150% injection 2

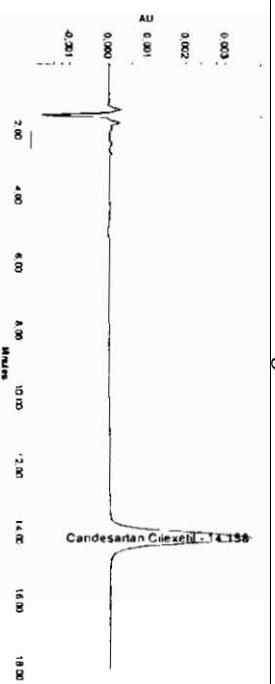
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.143	87393	100.00	3674	2.250	µg/ml

Nom : standard 150% injection 3

Chromatogramme

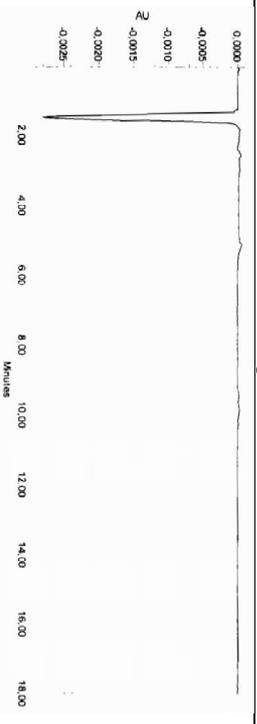


Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Candesartan Cilexetil	14.156	86839	100.00	3023	2.250	µg/ml

Annexe IV : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ribesartan – Prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage – Jour 1

Point de prélèvement : Mélangeur octogonal Pic du candesartan non détecté  
 Type de prélèvement : Eaux de rinçage Nettoyage : Jour 1

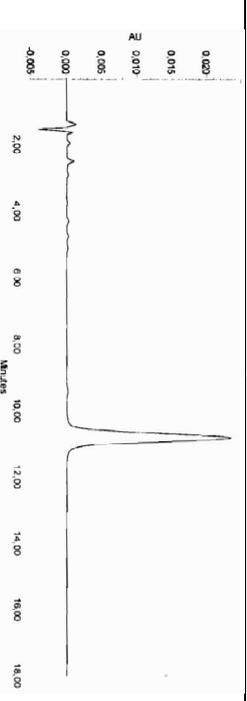
Chromatogramme-



Peak Name	RT
1 Candesartan Cilexetil	14.194

Point de prélèvement : Coté latéral du mélangeur Pic du candesartan non détecté  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 1

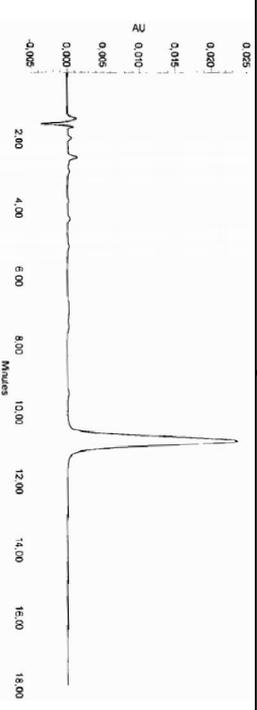
Chromatogramme



Peak Name	RT
1 Candesartan Cilexetil	14.194

Point de prélèvement : Sortie du mélangeur Pic du candesartan non détecté  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage Nettoyage : Jour 1

Chromatogramme

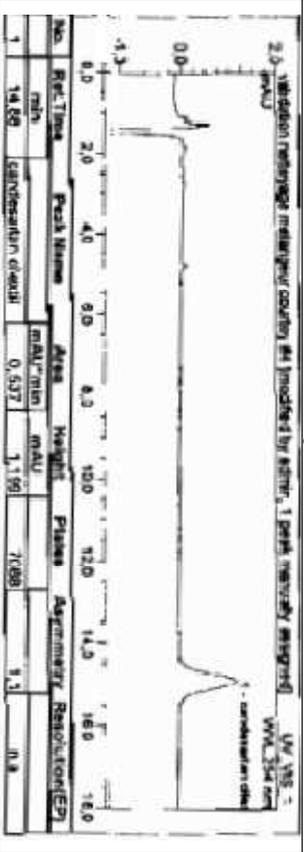


Peak Name	RT
1 Candesartan Cilexetil	14.194

Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ibuprofène – Gamme standard – Jour 2

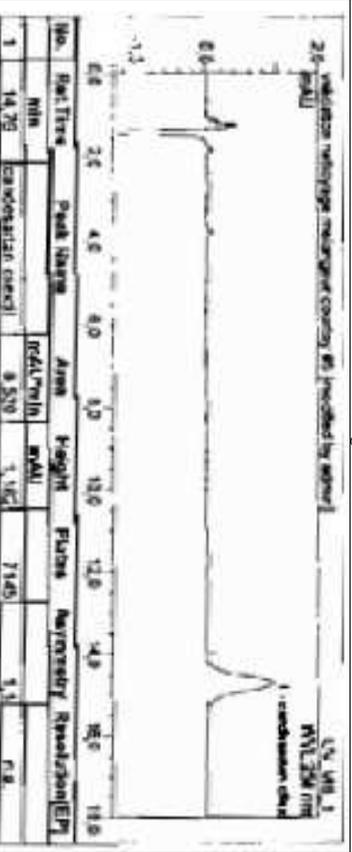
Nom : standard 50% Injection 1

Chromatogramme



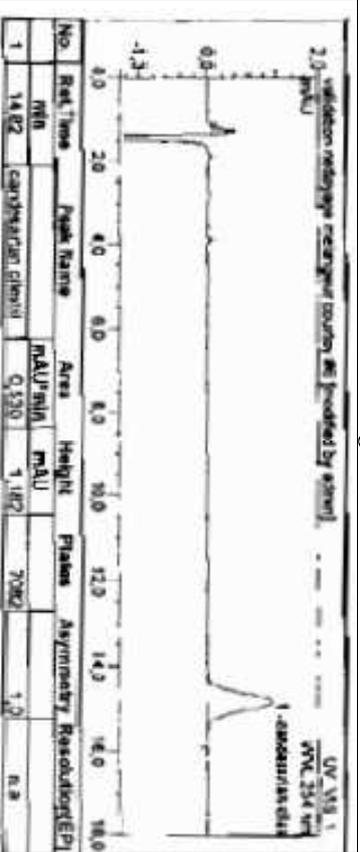
Nom : standard 50% Injection 2

Chromatogramme



Nom : standard 50% Injection 3

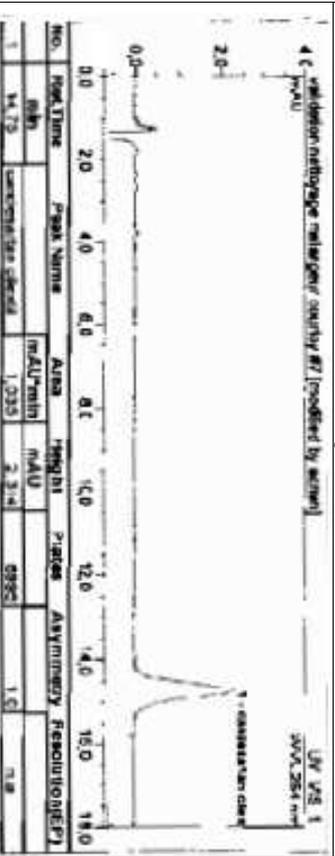
Chromatogramme



Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ibuprofène – Gamme standard – Jour 2

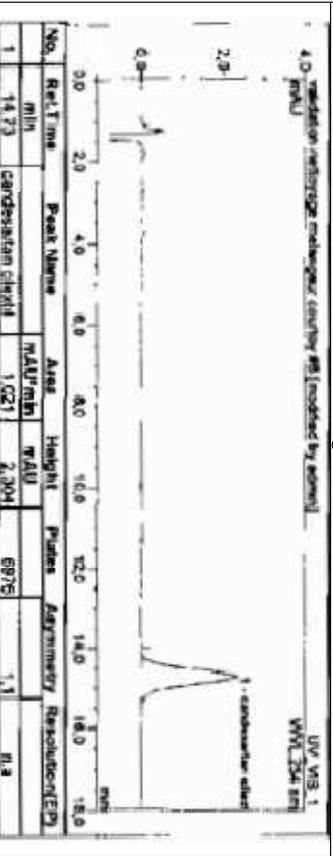
Nom : standard 100% Injection 1

Chromatogramme



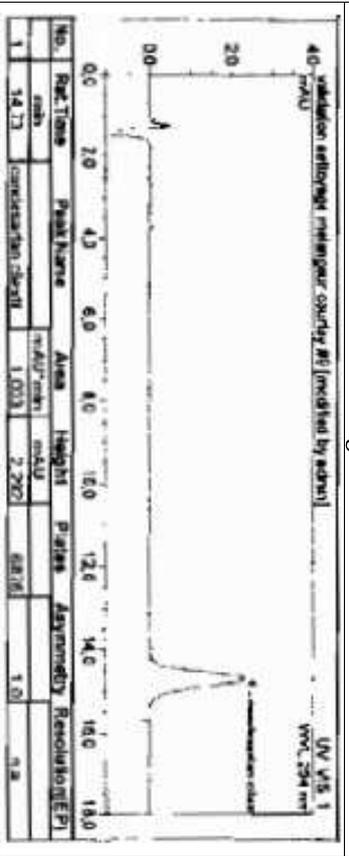
Nom : standard 100% Injection 2

Chromatogramme



Nom : standard 100% Injection 3

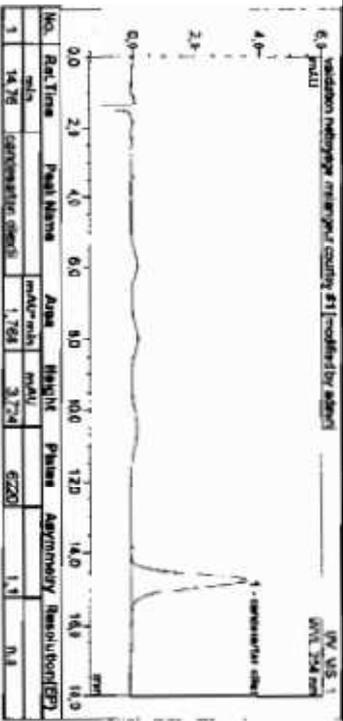
Chromatogramme



Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ribesartan – Gamme standard – Jour 2

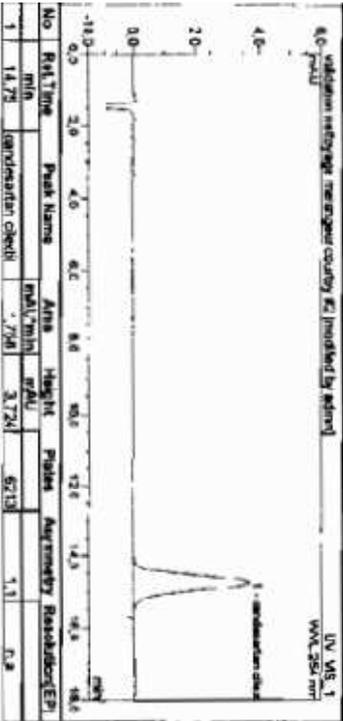
nom : standard 150% injection 1

Chromatogramme



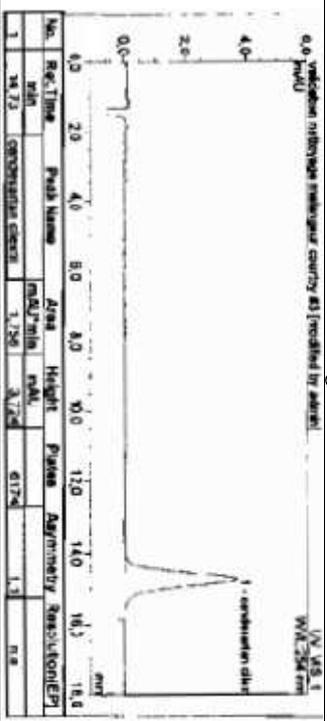
Nom : standard 150% injection 2

Chromatogramme



Nom : standard 150% injection 3

Chromatogramme

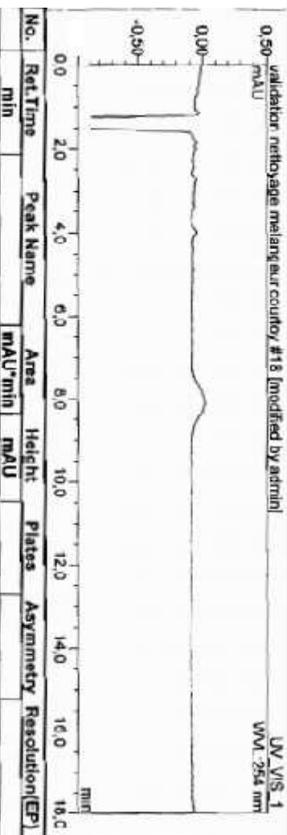


Annexe IV : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ribesartan – Prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage – Jour 2

Point de prélèvement Mélangeur octogonal

Type de prélèvement : Eau de rinçage

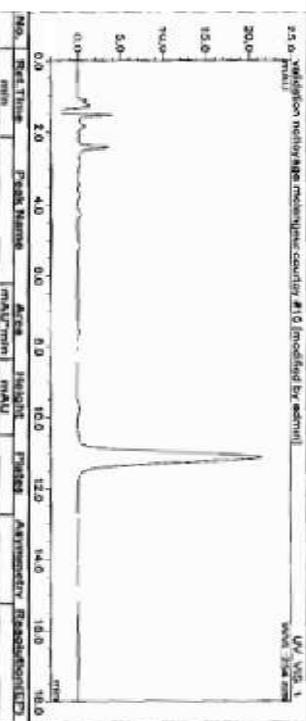
Chromatogramme-



Point de prélèvement : Coté latéral du mélangeur

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

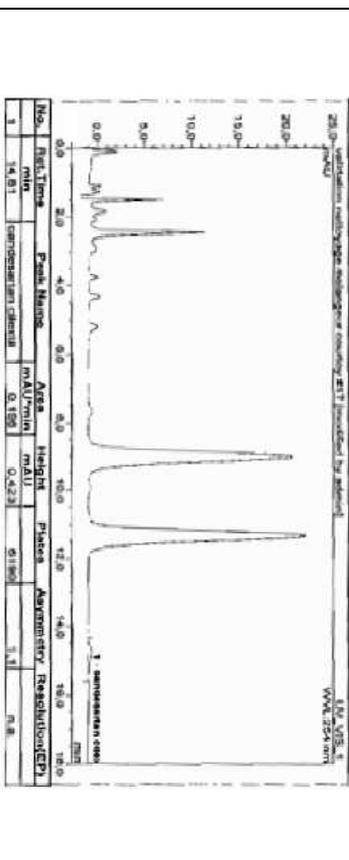
Chromatogramme



Point de prélèvement : Sortie du mélangeur

Type de prélèvement : Ecouvillonnage

Chromatogramme



Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ibuprofène – Gamme standard – Jour 3

Nom : standard 50% injection 1

Chromatogramme

**Component Summary For Area  
Channel: 2487Channel 1**

Sample Name	Inj	Channel	Vial	condesartan cylextyl	
1	std 50% condesaritan	2	2487Channel 1	1	32347
2	std 50% condesaritan	3	2487Channel 1	1	32709
3	std 50% condesaritan	4	2487Channel 1	1	32572
Mean					32543
Std. Dev.					183
% RSD					0,6

Nom : standard 50% injection 2

Chromatogramme

**Component Summary For Area  
Channel: 2487Channel 1**

Sample Name	Inj	Channel	Vial	condesartan cylextyl	
1	std 50% condesaritan	2	2487Channel 1	1	32347
2	std 50% condesaritan	3	2487Channel 1	1	32709
3	std 50% condesaritan	4	2487Channel 1	1	32572
Mean					32543
Std. Dev.					183
% RSD					0,6

Nom : standard 50% injection 3

Chromatogramme

**Component Summary For Area  
Channel: 2487Channel 1**

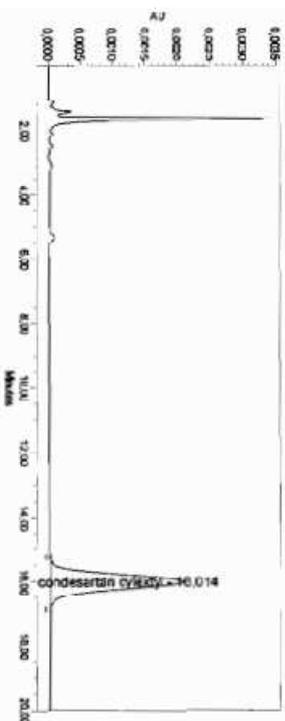
Sample Name	Inj	Channel	Vial	condesartan cylextyl	
1	std 50% condesaritan	2	2487Channel 1	1	32347
2	std 50% condesaritan	3	2487Channel 1	1	32709
3	std 50% condesaritan	4	2487Channel 1	1	32572
Mean					32543
Std. Dev.					183
% RSD					0,6

CXXVII

Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ibuprofène – Gamme standard – Jour 3

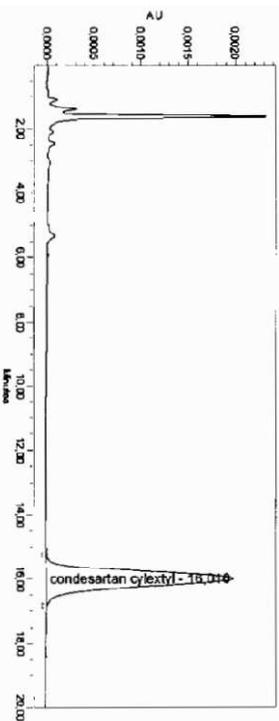
Nom : standard 100% injection 1

Chromatogramme



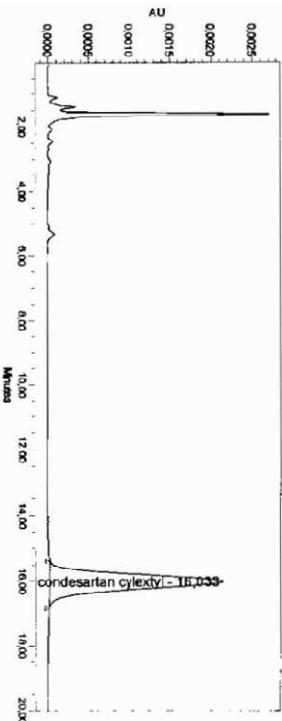
Nom : standard 100% injection 2

Chromatogramme



Nom : standard 100% injection 3

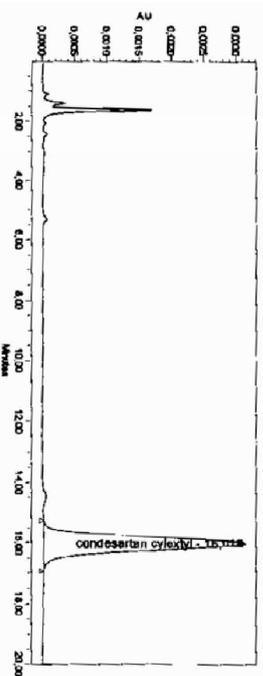
Chromatogramme



CXXVIII

Annexe V : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ribesartan – Gamme standard – Jour 3  
 nom : standard 150% injection 1

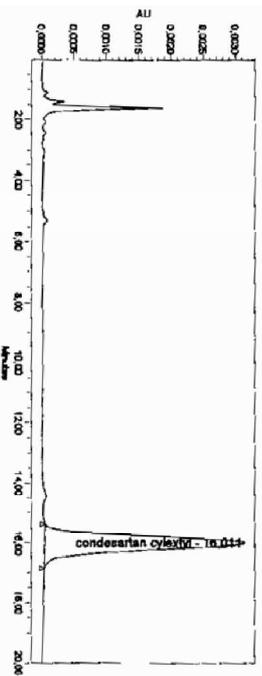
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 condesartan cylexyl	16.018	86030	100.00	3130

Nom : standard 150% injection 2

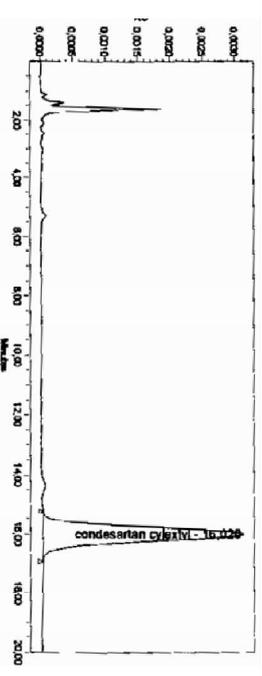
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 condesartan cylexyl	16.011	84757	100.00	3066

Nom : standard 150% injection 3

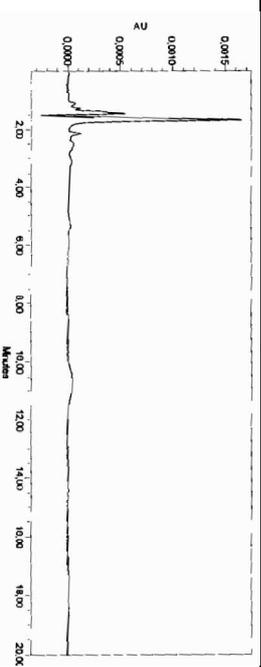
Chromatogramme



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 condesartan cylexyl	16.020	98316	100.00	3100

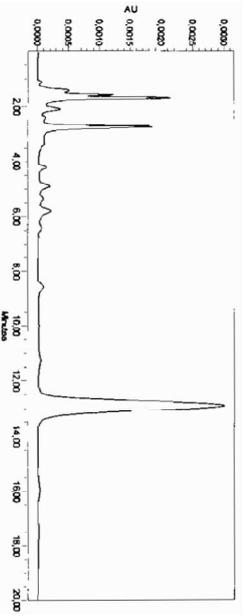
Annexe IV : Validation de nettoyage du mélangeur octogonal Chromatogrammes obtenus à partir du dosage des solutions du d'ribesartan – Prélèvements par écouvillonnage et eaux de rinçage – Jour 3

Point de prélèvement : Mélangeur octogonal  
 Type de prélèvement : Eau de rinçage  
 Chromatogramme-  
 Pic du candesartan non détecté  
 Nettoyage : Jour



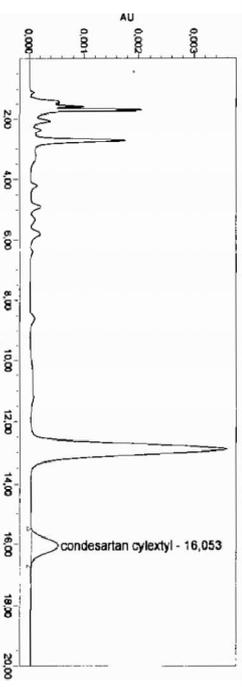
Peak Name	RT
1 condesartan cylexyl	16.053

Point de prélèvement : Coté latéral du mélangeur  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
 Chromatogramme  
 Pic du candesartan non détecté  
 Nettoyage : Jour 3



Peak Name	RT
1 condesartan cylexyl	16.053

Point de prélèvement : Sortie du mélangeur  
 Type de prélèvement : Ecouvillonnage  
 Chromatogramme  
 Aire du pic de candesartan = 15735  
 Nettoyage : Jour 3



Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1 condesartan cylexyl	16.053	15735	100.00	500

## Résumé

Dans ce travail de thèse de doctorat en sciences médicales, spécialité Chimie analytique – filière pharmacie, nous avons validé le nettoyage des équipements de fabrication de plusieurs formes pharmaceutiques selon la stratégie des pires cas. Cette stratégie est devenue une exigence réglementaire du fait qu'elle a été intégrée dans les récentes révisions des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF).

La nouveauté apportée dans notre travail par rapport aux travaux existant est la proposition d'une démarche quantitative pour le choix des traceurs physicochimiques et microbiologique d'une part, et l'introduction de l'approche PDE (Permitted Daily Exposure) qui a pour finalité d'établir des limites d'exposition basée sur le risque santé du patient, d'autre part.

Cette nouvelle approche d'introduction très récente en industrie pharmaceutique est exigé par la ligne directrice de l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) et reprise par la récente version des BPF, en appliquant cette approche nous nous sommes conformés aux nouvelles exigences réglementaires.

**Mots clés : contamination, nettoyage, traceur, PDE, pires cas, validation.**

## Abstract

In this doctoral thesis work in medical sciences, specialty Analytical chemistry - pharmacy sector, we validated the cleaning of the equipment of manufacture of several pharmaceutical forms according to the strategy of the worst cases. This strategy has become a regulatory requirement as it has been incorporated into recent revisions of Good Manufacturing Practices (GMP).

The progress made in our work compared to the existing works is the proposal of a quantitative approach in the choice of physicochemical and microbiological tracers and the introduction of the PDE (Permitted Daily Exposure) approach which aims to establish exposure limits based on the patient's health risk.

This new approach of very recent introduction in the pharmaceutical industry is required in the guidelines of the European Medicines Agency (EMA) and taken up by the recent version of GMP, applying this approach we have complied with the new regulatory requirements.

**Key words:** contamination, cleaning, tracer, PDE, worst case, validation.

## ملخص

في هذه الأطروحة الدكتوراه في العلوم الطبية، تخصص الكيمياء التحليلية - قطاع الصيدلة، قمنا بالتحقق من تنظيف معدات تصنيع العديد من الأشكال الصيدلانية وفقاً لإستراتيجية أسوأ الحالات. أصبحت هذه الإستراتيجية مطلباً تنظيمياً حيث تم تضمينها في المراجعات الحديثة لممارسات التصنيع الجيدة (GMP). الحداثة في عملنا مقارنة بالأعمال الموجودة اقترح نهج كمي في اختيار المتبعين الفيزيوكيميائي والميكروبيولوجي من ناحية وإدخال نهج PDE (التعرض اليومي المسموح) الذي يهدف إلى وضع حدود التعرض على أساس المخاطر الصحية للمريض من ناحية أخرى. هذا النهج الجديد الذي تم إدخاله حديثاً في صناعة المستحضرات الصيدلانية مطلوب في الإرشادات الخاصة بوكالة الأدوية الأوروبية (EMA) والتي تم تناولها من خلال الإصدار الحديث من GMP ، و بتطبيق هذا المنهج نكون قد امتثلنا للمتطلبات التنظيمية الجديدة. الكلمات المفتاحية: التلوث ، التنظيف ، التتبع ، PDE ، الحالة الأسوأ ، التحقق من الصحة.