

N° d'ordre :

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

-----  
UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIÈRE  
FILIERE : CHIMIE

## MÉMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

### THEME

**Validation du nettoyage de la verrerie de laboratoire de  
contrôle qualité en industrie pharmaceutique**

Présenté par : **BAZIZ** **NORA**  
**BELAMIRI** **THANINA**

Déposé, le 21 / 10 / 2021, devant le Jury composé de :

<i>Mme. AYATI</i>	<i>FADILA</i>	<i>MCB UMMTO</i>	<i>PRESIDENTE</i>
<i>Mr. MAMOU</i>	<i>MARZOUK</i>	<i>MCA UMMTO</i>	<i>ENCADREUR</i>
<i>Mr. YAHIAOUI</i>	<i>AMAR</i>	<i>SUPERVISEUR TABUK</i>	<i>Co-ENCADREUR</i>
<i>Mme. BELMAHDI</i>	<i>LILA</i>	<i>MCB UMMTO</i>	<i>EXAMINATRICE</i>

2020/2021



## **REMERCIEMENTS**

## *Remerciements*

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

*Nous remercions particulièrement notre promoteur **Pr. MAMOU. M**, pour son aide, son encouragement, sa générosité et les efforts qu'il a faits pour nous faciliter le travail.*

*Nous tenons à remercier également notre Co-promoteur **YAHIAOUI. A**, superviseur du laboratoire contrôle qualité pour ses précieux conseils, son soutien moral, la confiance qu'il nous a accordé durant toute la période de ce travail.*

*Nous tenons à remercier **Dr.BRAHIMI**, résident en chimie analytique pour son aide, ses encouragements et le temps qu'il nous a consacré.*

*Nos profonds remerciements aux membres de jury, Qui nous ont fait le grand honneur d'examiner ce travail.*

*Au personnel de **TABUK PHARMACEUTICALS** pour nous avoir recueilli et nous avoir facilité la réalisation de notre mémoire.*

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

***Nora & Thanina***



---

## DÉDICACES



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A celle qui m'a donné la vie, la confiance, le vrai amour avec beaucoup de tendresse,  
L'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi, à ma  
très chère mère **Hayet**.*

*A celui qui m'a donné la force et qui m'a offert tout le soutien dont j'ai besoin, celui qui  
s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, j'imagine quelle serait ta joie aujourd'hui,  
j'aurai voulu que tu assistes à l'aboutissement de ces années de dur labeur, Dieu décide  
autrement. Que Dieu t'accorde la paix éternelle et t'accueille dans son vaste paradis,  
mon très cher père **Mouhand***

*A mes frères **Nacer et Lounes** et mes sœurs **Liza, Sondra, Liliane**, et mes nièces **Elyne**  
et **Dania** et mon neveu **Yacine** ; à qui je souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.*

*Une spéciale dédicace à cette personne qui compte vraiment pour moi et pour qui je  
porte beaucoup de tendresse et de respect. A toi **Hamida***

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

*A toutes mes chères amies que j'aime beaucoup et à qui je souhaite un avenir plein de  
réussite et de bonheur : **Amel, Mounia**.*

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

*A mon agréable binôme **Thanina***

*Ensemble nous avons pu mener ce travail à terme*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*Nora*





## *Dédicaces*

*Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail à tout ceux qui me sont chers ;*

*Mes parents,*

*Ce travail est un peu le vôtre aussi. Merci pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez inculqué et qui m'amènent à être ici aujourd'hui. Je vous serai éternellement reconnaissante de m'avoir soutenu durant mes études. Vous êtes un exemple pour ma vie d'adulte. Je vous aime.*

*Mes deux sœurs KAHINA et THAMAZGHA,*

*Vous m'avez arrosé de tendresse et d'espoirs. Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai vous remercier comme il se doit. Votre affection me couvre et votre présence à mes cotés a toujours été ma source de force.*

*Mon frère unique AGHILASSE,*

*Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour ton soutien, tu n'as pas cessé de me conseiller tout au long de mes études. Que Dieu te garde pour moi.*

*Mes deux anges ARIS et MERIEM,*

*Vous êtes la lumière de mes jours et la flamme de mon cœur, je vous adore.*

*Mes tantes et oncles paternels et maternels,*

*Merci pour votre soutien et votre amour qui a comblé ma vie de joie surtout à toi nana « DJEDJIGUA », nana « SADIA » et ton mari « RACHID », vous n'avez jamais cessé de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

*Mes cousins et cousines,*

*Ma grand- mère maternelle,*

*Tes prières ont été ma source de force, j'espère que ta bénédiction m'accompagnerait toujours  
Que Dieu te protège et te garde pour moi.*

*A la mémoire de mes grands parents, ma grande mère paternelle « YEMMA ZAAZI » et ma tante « HADJILA » décédées trop tôt, j'espère que du monde qui est sien maintenant, il apprécie ce humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une nièce qui a prié pour le salut de leurs âmes puisse Dieu, le tout puissant, vous avoir en sa sainte miséricorde.*

*Mes chers amis(es) KARIM et DALILA.*

*Ma chère binôme «NORA » ainsi qu'à toute sa famille.*

*Thanina*





---

# TABLE DES MATIÈRES

# Table des matières

---

**REMERCIEMENTS**

**DEDICACE**

**TABLE DES MATIÈRES**

**LISTE DES ABRÉVIATIONS**

**LISTE DES FIGURES**

**LISTE DES TABLEAUX**

**INTRODUCTION.....1**

**PARTIE THEORIQUE : REVUE DE LA LITTERATURE AU SUJET DE LA  
VALIDATION DE NETTOYAGE.**

**CHAPITRE I : QUALITE ET CONTROLE QUALITE EN INDUSTRIE  
PHARMACEUTIQUE.**

**Objectif.....2**

**1 Qualité .....2**

1.1 Histoire de la qualité dans l'industrie.....2

1.2 Définition.....2

1.3 Qualité en industrie pharmaceutique :.....2

1.4 Outils de la qualité :.....3

1.4.1 Définition .....3

1.4.2 Outils de la qualité : .....3

**2 Assurance qualité .....4**

**3 Contrôle de la qualité :.....4**

**CHAPITRE II : GESTION DE LA CONTAMINATION EN INDUSTRIE  
PHARMACEUTIQUE.**

**1 Contamination .....6**

**2 Types de contamination .....6**

2.1 Contamination particulaire .....6

2.2 Contamination microbiologique ou bio-contamination .....6

2.3 Contamination chimique .....6

2.4 Contamination croisée.....7

# Table des matières

---

<b>3 Triangle de la contamination : Relation sources –Vecteurs – Récepteurs de la contamination</b> .....	<b>7</b>
3.1 Sources et vecteurs de la contamination.....	8
3.1.1 Main d’œuvre (personnel).....	8
3.1.2 Milieu.....	8
3.1.3 Matériel.....	8
3.1.4 Matière.....	9
3.1.5 Méthode.....	9
3.2 Récepteurs de la contamination.....	9
<b>4 Maitrise de la contamination</b> .....	<b>9</b>
4.1 Maitrise préventive de la contamination : Approche des 6M. ....	9
4.1.1 Main d’œuvre (personnel).....	10
4.1.2 Milieu.....	10
4.1.3 Matériel.....	11
4.1.4 Matière.....	11
4.1.5 Méthode.....	11
4.1.6 Management.....	11
4.2 Maitrise curative de la contamination : Nettoyage.....	12
4.2.1 Définition.....	12
4.2.2 Objectif.....	12
4.2.3 Méthode de nettoyage.....	12
4.2.4 Mécanisme de nettoyage.....	12
4.2.5 Facteurs influençant le nettoyage.....	14
4.2.6 Les dix (10) principes du nettoyage.....	15
4.2.7 Rinçage.....	16
4.2.8 Choix des verreries.....	16
4.2.9 Traçabilité du nettoyage.....	17

# Table des matières

---

## CHAPITRE III: VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA VERRERIE DE LABORATOIRE.

<b>1</b>	<b>Validation</b> .....	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>Validation de nettoyage</b> .....	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>Stratégies de validation de nettoyage</b> .....	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>Aspects réglementaires et normatifs</b> .....	<b>19</b>
<b>5</b>	<b>Différents types de validation</b> .....	<b>19</b>
5.1	Validation prospective :.....	20
5.2	Validation simultanée (concourante ou concomitante) :.....	20
5.3	Validation rétrospective : .....	20
<b>6</b>	<b>Critères d'acceptation</b> .....	<b>20</b>
6.1	Critère d'acceptation visuel.....	21
6.2	Critère de 10 ppm .....	21
<b>7</b>	<b>Méthodes de prélèvements</b> .....	<b>21</b>
7.1	Types de prélèvements : .....	21
<b>8</b>	<b>Méthodes d'analyses</b> .....	<b>22</b>
8.1	Analyses microbiologiques .....	22
8.2	Analyses physico chimiques .....	22
8.2.1	Méthodes non spécifiques .....	24
8.2.2	Méthodes spécifiques .....	24
<b>9</b>	<b>Différentes approches de la validation.</b> .....	<b>25</b>
9.1	Approche basée sur le pire cas « WORST-CASE».....	25
9.1.1	Définition. ....	25
9.1.2	Détermination du pire des cas.....	25
9.2	Nouvelle approche décrite par la pharmacopée américaine.....	26
9.2.1	Bonnes pratiques de validation de nettoyage.....	26

# Table des matières

---

<b>10</b>	<b>Système documentaire.</b>	<b>28</b>
10.1	Critères de validation analytique	28
10.2	Définitions des critères de validation	28
10.2.1	Spécificité/ Sélectivité	29
10.2.2	Fonction de réponse	29
10.2.3	Linéarité	29
10.2.4	Justesse (biais)	29
10.2.5	Fidélité	29
10.2.6	Exactitude	30
10.2.7	Limite de détection et de quantification	30
10.2.8	Intervalle de dosage	30
10.3	Etude statistique de la validation analytique	30
10.3.1	Spécificité	30
10.3.2	Fonction de réponse	31
10.3.3	Alignement des observations	32
10.3.4	Prédictions inverses	32
10.3.5	Calcul de la justesse et de la fidélité	33
10.3.6	Calcul de l'exactitude	35
10.3.7	Erreur totale et profil d'erreur totale	36
10.3.8	Calcul de l'intervalle de tolérance	36
10.3.9	Etablissement du profil d'exactitude	37
10.3.10	Choix de la fonction de réponse	38
10.3.11	Linéarité	38
10.3.12	Limites de quantifications	38
10.4	Rapport de validation.	38

# Table des matières

---

## **PARTIE PRATIQUE : VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA VERRERIE DE LABORATOIRE**

### **I. MATERIEL ET METHODES**

<b>1</b>	<b>Matériel et méthodes</b> .....	<b>39</b>
1.1	Matériel .....	39
1.2	Méthodes .....	40
1.2.1	Choix du worst case .....	40
1.2.2	Critères d'acceptation .....	42
1.2.3	Validation de la méthode de dosage du contaminant à l'état de traces.....	42
1.2.4	Validation du procédé de nettoyage.....	44

### **II. RESULTATS ET DISCUSSIONS**

<b>1</b>	<b>Choix du worst case</b> .....	<b>46</b>
<b>2</b>	<b>Résultats de la validation analytique du dosage de l'irbesartan à l'état de traces</b> .....	<b>49</b>
2.1	Données brutes .....	49
<b>3</b>	<b>Validation du procédé de nettoyage</b> .....	<b>62</b>
	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>63</b>

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**ANNEXES**

**RESUME**

**ABSTRACT**



---

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

## Liste des abréviations

---

°C	Degré Celsius
µg	microgramme
µl	microlitre
AQ	Assurance Qualité
AFNOR	Association Française de Normalisation
AMM	Autorisation de <b>M</b> ise sur le <b>M</b> arché
AMDEC	Analyse des <b>M</b> odes de <b>D</b> éfaillance, de leurs <b>E</b> ffets et leur <b>C</b> riticité.
ANSM	Agence Nationale de Sécurité des <b>M</b> édicaments et des produits de santé
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité <b>S</b> anitaire et des produits de santé
BPF	<b>B</b> onnes <b>P</b> ratiques de <b>F</b> abrication
CCM	Chromatographie sur couche mince.
CPG	Chromatographie en phase gazeuse.
COT	Carbone Organique Total.
CEN	Comité <b>E</b> uropéen de <b>N</b> ormalisation
CAS	Chemical Abstracts <b>S</b> ervice
FDA	Food and <b>D</b> rug <b>A</b> ministration
HEPT	<b>H</b> auteur <b>E</b> quivalente à un <b>P</b> lateau <b>T</b> héorique.
HEC	Hydroxy <b>E</b> thyl <b>C</b> ellulose
HPLC	Chromatographie <b>L</b> iquide à <b>H</b> aute <b>P</b> erformance.
ICH	International <b>C</b> onference on <b>H</b> armonisation.
ISO	Organisation Internationale de Normalisation.
IPR	Indice de <b>P</b> riorité de <b>R</b> isque.
LOD	<b>L</b> imit <b>O</b> f <b>D</b> etection.
LOQ	<b>L</b> imit <b>O</b> f <b>Q</b> uantification.
MSE	<b>M</b> ean <b>S</b> quare for the <b>E</b> rror;
MSM	<b>M</b> ean <b>S</b> quare for the <b>M</b> odel;
NF	Norme Française
mg	milligramme.
mL	millilitre.
nm	nanomètre.
Min	<b>M</b> inute.
pH	<b>P</b> otentiel d' <b>H</b> ydrogène.
ppm	<b>p</b> artie <b>p</b> ar <b>m</b> illion.

## Liste des abréviations

---

<b>SE</b>	Standard d'Étalonnage.
<b>SV</b>	Standard de Validation.
<b>SFSTP</b>	Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
<b>T°</b>	Température en degré Celsius.
<b>UV</b>	Ultra Violet.
<b>V</b>	Validation
<b>VN</b>	Validation de Nettoyage



## **LISTE DES FIGURES**

## Liste des figures

---

**Figure 01** : Triangles de la contamination.

**Figure 02** : Diagrammes de 6 M représentant les sources de la contamination.

**Figure 03** : Schématisations de l'action de détergent sur la souillure.

**Figure 04** : Cercle de SINNOR.

**Figure 05** : Chromatogrammes du paramètre spécificité.

**Figure 06** : Courbes d'étalonnages obtenues avec la fonction  $y = ax + b$ .

**Figure 07** : Courbes des profils d'exactitude obtenues avec les différentes fonctions.

**Figure 08** : Tracé du profil d'exactitude pour la fonction  $y = ax + b$ .

**Figure 09** : Courbe de linéarité obtenue avec la fonction  $y = ax + b$ .

**Figure 10** : Appareillage en HPLC.

**Figure 11** : Principe de fonctionnement d'une chaîne HPLC.

**Figure 12** : Les organes d'une machine HPLC.

**Figure 13** : Pompe de l' HPLC.

**Figure 14** : Colonne analytique HPLC-C18-USP L1.

**Figure 15** : Schéma d'un détecteur UV-visible.

**Figure 16** : Informations importées par un chromatogramme.

**Figure 17** : Qualité de séparation des pics.



---

## **LISTE DES TABLEAUX**

## Liste des tableaux

---

- Tableau I :** Avantages, Inconvénients et Application des différentes méthodes d'analyse.
- Tableau II :** Recette recommandée pour les solutions d'indicateurs fluorescents utilisée dans l'expérience de validation de nettoyage.
- Tableau III :** Exemples de fonction de réponse.
- Tableau IV :** Règles d'alignement pour différentes fonctions de réponse.
- Tableau V :** Calcul des prédictions inverses pour différentes fonctions de réponse.
- Tableau VI :** Liste du matériel de contrôle utilisé.
- Tableau VII :** Liste de la verrerie utilisée.
- Tableau VIII :** Liste des matières premières utilisées.
- Tableau IX :** Liste des réactifs utilisés.
- Tableau X :** Grille de cotation de la solubilité aqueuse des principes actifs.
- Tableau XI :** Grille de cotation de la nettoyabilité des principes actifs.
- Tableau XII :** Grille de cotation de la méthode de détection des principes actifs.
- Tableau XIII :** Tableau présentant les masses théoriques des niveaux de concentration de l'irbesartan.
- Tableau XIV :** Matrice pour le choix de produits pire cas – base de données.
- Tableau XV :** Matrice pour le choix de produit pire cas - Cotation des critères.
- Tableau XVI :** Données brutes des standards d'étalonnage et de validation.
- Tableau XVII :** Résultats obtenus pour la fonction  $y = ax + b$ .
- Tableau XVIII :** Alignement des réponses observées avec les trois séries des SV.
- Tableau XIX :** Prédictions inverses obtenues avec les SV.
- Tableau XX :** Justesse et exactitude calculées pour chaque niveau de concentration des standards de validation.
- Tableau XXI :** Calcul des  $MSE_j$ ,  $MSM_j$ .
- Tableau XXII :** Calcul des CV de répétabilité et de fidélité-intermédiaire.
- Tableau XXIII :** Calcul de l'erreur totale et des intervalles de tolérances inférieurs et supérieurs.
- Tableau XXIV :** Masses prédites en fonction des masses introduites.
- Tableau XXV :** Résultats de la recherche de trace de l'irbesartan.



---

# INTRODUCTION

## Introduction

---

La fabrication des médicaments de la qualité requise, conforme aux spécifications de leurs dossiers d'autorisation de mise sur le marché doit d'être la priorité de tout site industriel pharmaceutique.

Il est primordial pour l'industrie pharmaceutique d'optimiser ses propres procédés de nettoyage. Tout procédé de nettoyage non maîtrisé est source de contamination et par conséquent de non-conformité, ce qui entraîne inévitablement des pertes et une augmentation des coûts de production [1].

Comme tout autre processus pharmaceutique, l'opération de nettoyage, qu'elle concerne la verrerie ou les équipements de production, doit faire l'objet d'une validation, dans le cadre d'une politique d'assurance de la qualité, et ce conformément aux exigences réglementaires nationales, européennes et mondiales de plus en plus strictes.

La mise au point et la validation de méthodes d'analyse utilisées en contrôle qualité se trouvent être aujourd'hui un enjeu majeur pour les laboratoires pharmaceutiques et représentent un pilier de l'assurance qualité. Utilisées principalement pour le dosage des principes actifs, elles servent aussi au dosage de traces lors de la recherche d'éventuelles contaminations de produits ou dans un but de validation de nettoyage. La validation se trouve donc être une étape intermédiaire indispensable avant utilisation de toute méthode analytique [2, 3].

Notre travail a pour objectif de valider le nettoyage de la verrerie d'un laboratoire de contrôle qualité au sein d'une entreprise de production pharmaceutique.

Le manuscrit est structuré en trois parties :

La première partie s'agit d'une revue de la littérature au sujet de la validation de nettoyage. Elle est subdivisée en trois chapitres ;

Le chapitre I : Décrit la qualité et contrôle qualité en industrie pharmaceutique.

Le chapitre II : Documente la gestion de la contamination en industrie pharmaceutique.

Le chapitre III : Illustre la démarche à suivre pour une validation du nettoyage de la verrerie de laboratoire.

La seconde partie correspond à la pratique de ce travail, elle traite un cas de validation de nettoyage de la verrerie dans une entreprise pharmaceutique TABUK Pharmaceuticals.



---

**PARTIE THEORIQUE**  
**REVUE DE LA LITTERATURE AU SUJET DE**  
**LA VALIDATION DE NETTOYAGE**

---



---

# CHAPITRE I

## QUALITE ET CONTROLE QUALITE EN INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

---

## Objectif

L'objectif principal de notre travail est de valider un procédé de nettoyage de la verrerie de laboratoire de contrôle qualité basé sur l'approche « pire cas ».

Secondairement à cet objectif principale, nous sommes intéressées à la mise au point et la validation d'une méthode de dosage de l'irbesartan par Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) en vue d'être appliquée en routine pour le dosage des traces du principes actif dans les eaux de rinçage et ce, en utilisant le profil d'exactitude comme outil de décision, décrit dans le guide de validation élaboré par la commission de la société française des sciences et techniques pharmaceutiques (SFSTP) publié dans la revue Pharma Pratique en janvier 2006.

## 1 Qualité

### 1.1 Histoire de la qualité dans l'industrie

Il est possible de remonter aux origines de l'homme pour parler de qualité. Dès lors que l'homme a commencé à fabriquer des outils, armes..., il est possible de soulever le point de la qualité (bon fonctionnement, efficacité) [4].

### 1.2 Définition

Selon AFNOR (ISO 8402), la qualité est « l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou d'un service qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites d'un client ou des utilisateurs » [2].

La norme ISO précise également qu'il s'agit de « l'aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire les besoins des utilisateurs » [2].

### 1.3 Qualité en industrie pharmaceutique :

Dans le domaine pharmaceutique, cette notion de qualité implique l'ensemble des facteurs qui contribuent à la sécurité, l'efficacité et l'acceptabilité des médicaments. Toute entreprise pharmaceutique a donc l'obligation de concevoir et de mettre en œuvre une politique de qualité dont le but est de garantir que les médicaments fabriqués présentent les spécificités requises [3].

Le but de l'industrie pharmaceutique est de produire un médicament de qualité, et cela passe par des études cliniques et précliniques poussées, une production maîtrisée, dans le but d'obtenir une balance bénéfice / risque suffisante pour satisfaire le patient [4].

## 1.4 Outils de la qualité :

### 1.4.1 Définition

Il s'agit des moyens mis en œuvre dans les actions d'amélioration, ce sont des outils de résolution de problème [5].

### 1.4.2 Outils de la qualité :

Les outils de la qualité ont parfois été désignés comme les 7 outils de la qualité, qui sont :

#### 1.4.2.1 *Q, Q, O, Q, C, P*

Technique de structuration de l'information sur un sujet donné, sur la base des questions suivantes : Quoi ? Qui ? Où ? Quand ? Comment ? Pourquoi ?

#### 1.4.2.2 *Diagramme cause –effet (5M)*

Le diagramme cause-effet également appelé Diagramme d'Ishikawa ou règle des 5 M se présente sous la forme d'une arborescence visualisant le problème d'un côté et ses causes potentielles de l'autre.

#### 1.4.2.3 *Brainstorming (remue-méninges)*

Il s'agit d'une séance de travail permettant de produire, en groupe, un maximum d'idées, dans un minimum de temps sur un thème donné.

#### 1.4.2.4 *Diagramme de Pareto*

Le diagramme de Pareto est un moyen simple pour classer les phénomènes par ordre d'importance.

#### 1.4.2.5 *Le vote pondéré*

Aussi appelé « méthode de Blake et Mouton ».cet outil est utilisé pour provoquer et accélérer un choix lorsque les données sont qualitatives.

#### 1.4.2.6 *Le logigramme*

Aussi appelé « The flow hart ».Il permet de visualiser de façon séquentielle et logique les actions à mener et les décisions à prendre pour atteindre un objectif.

#### 1.4.2.7 *La matrice de comptabilité*

C'est un outil d'aide à la prise de décision permettant de rechercher :

- Un problème
- Une solution
- Une action à entreprendre.

## 2 Assurance qualité

Selon la norme ISO 9000:2005, l'assurance qualité (AQ) est la "Partie du management de la qualité visant à donner confiance en ce que les exigences pour la qualité seront satisfaites" [2].

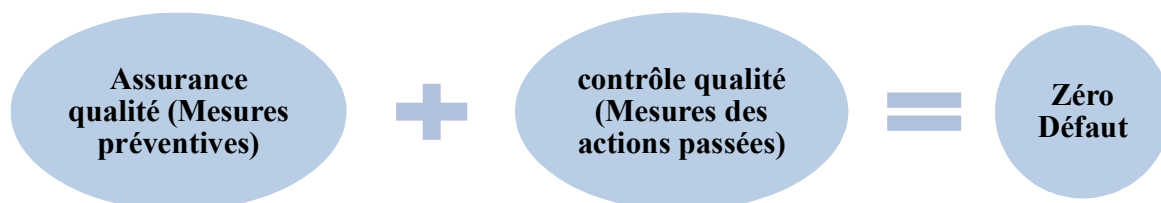
Toutes activités ou actions ayant une possible influence sur la qualité du médicament doivent être englobées dans le concept d'AQ. C'est une discipline qui a pour but la prévention de la non-qualité plutôt que la détection. Elle permet également de repérer les dysfonctionnements occasionnels, de les corriger et d'éviter leur répétition.

La doctrine de l'AQ consiste à écrire ce que l'on veut faire (planifier), dans le but de faire ce qu'on a écrit, tout en contrôlant, en agissant et en ajustant ce qu'on a fait (vérifier), et sans oublier d'écrire ce qu'on a fait dans un souci de traçabilité.

L'assurance de la qualité c'est :

- Assurer la conformité et la qualité du produit.
- Garantir l'homogénéité du lot.
- Garantir la reproductibilité des fabrications.
- Garantir l'historique et la traçabilité.
- Assurer la sécurité du patient.
- Garantir les conditions de fabrication des médicaments, depuis la réception des matières jusqu'à l'expédition des produits finis [4].

Au sens général, pour assurer la maîtrise de la Qualité, l'Assurance Qualité peut se résumer en une démarche qui tend vers le zéro défaut. Cette démarche prévient l'erreur ou le défaut, plutôt que d'avoir à le constater à postériori, c'est la naissance du concept de « Qualité totale » [2].



## 3 Contrôle de la qualité :

Dans les années 1930, le concept de contrôle qualité fait son apparition, par les biais des travaux de M. Shewart. Le but étant de mettre en place des organisations et des méthodes de travail nouvelles pour que l'on puisse maîtriser la qualité [4].

Le contrôle de la qualité fait partie des bonnes pratiques de fabrication ; il concerne l'échantillonnage, les spécifications, le contrôle, ainsi que les procédures d'organisation, de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées ont réellement été effectuées et que les matières premières, les articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, la vente ou l'approvisionnement sans que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante [6].



---

## **CHAPITRE II**

### **GESTION DE LA CONTAMINATION EN INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE**

---

## 1 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 » [7].

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 Types de contamination

Il existe plusieurs types de contamination :

### 2.1 Contamination particulaire

Les contaminants particuliers sont des substances qui ne font pas parties de la composition du produit fabriqué (toute substance différente des principes actifs ou des excipients).

Ces contaminants proviennent des équipements eux-mêmes (mauvais nettoyage des résidus de produit précédent...), du personnel, de l'air ambiant,... [8].

### 2.2 Contamination microbiologique ou bio-contamination

Selon la norme ISO 14698-1 : 2003, la bio-contamination est la « contamination d'une matière, d'un appareil, d'un individu, d'une surface, d'un liquide, d'un gaz ou de l'air par des particules viables ».

La bio-contamination est due à l'introduction des microorganismes (virus, bactéries, levures ou moisissures) dans le produit fabriqué [9].

### 2.3 Contamination chimique

L'origine de la présence d'un contaminant chimique dans un produit pharmaceutique est variée. La contamination chimique se fait par les substances actives, les excipients, les produits intermédiaires et les agents de nettoyage. Ces contaminants font l'objet de suivis d'identification et de quantification.

Néanmoins, tous les contaminants chimiques ne seront pas détectés.

La plupart des contaminations chimiques ont pour origine une contamination croisée [9].

## 2.4 Contamination croisée

La contamination croisée ou « cross contamination » se définit comme étant l'introduction d'un produit (substance active, excipient, articles de conditionnements primaires et secondaires, produit semi-fini, etc.) dans une autre production pharmaceutique, de la matière première réceptionnée jusqu'au produit fini conditionné [9].

Selon les Bonnes pratiques de fabrication, la « contamination d'une matière ou d'un produit par une autre matière ou par un autre produit » [7].

On peut distinguer deux types de contamination croisée :

- **La contamination successive :**

Cette contamination est rencontrée lorsque les équipements ne sont pas dédiés, c'est-à-dire qu'un équipement est utilisé pour fabriquer plusieurs produits différents. Un résidu du précédent produit reste dans l'équipement et vient contaminer la fabrication suivante.

- **La contamination simultanée :**

Lorsque plusieurs produits sont fabriqués sur des équipements différents de façon simultanée 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, d'où l'intérêt de la maîtrise des flux.

Ainsi le terme de contamination croisée engloberait bien la contamination chimique, particulière ou microbiologique [3].

## 3 Triangle de la contamination : Relation sources –Vecteurs – Récepteurs de la contamination

La contamination croisée résulte de la relation directe ou indirecte entre ces trois éléments formant un triangle de la contamination [10].

Ces éléments sont : les sources, les vecteurs et les récepteurs comme représenté dans la figure 01.

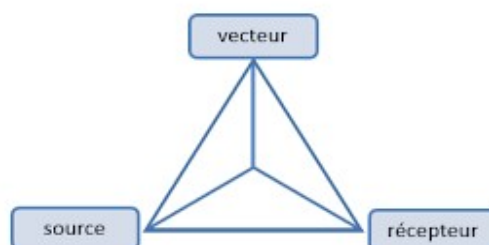


Figure 01 : Triangle de la contamination [9].

### 3.1 Sources et vecteurs de la contamination

La méthode 6M ou encore appelée diagramme de poisson (en arête de poisson) ou d'ishikawa est une méthode d'analyse qui sert à rechercher et à représenter de manière simple les différentes causes possibles d'un problème. Elle est très utilisée en production pour la recherche de causes de déviations survenues pendant la fabrication d'un médicament. Cette méthode permet d'identifier les sources de contamination et de connaître en conséquence ses vecteurs [10].

On entend par 6M : **M**ain d'œuvre, **M**atériel, **M**atière, **M**éthodes, **M**ilieu, **M**anagement.

Les différents éléments constituant ces sources et ces vecteurs sont présentés dans la figure 02.

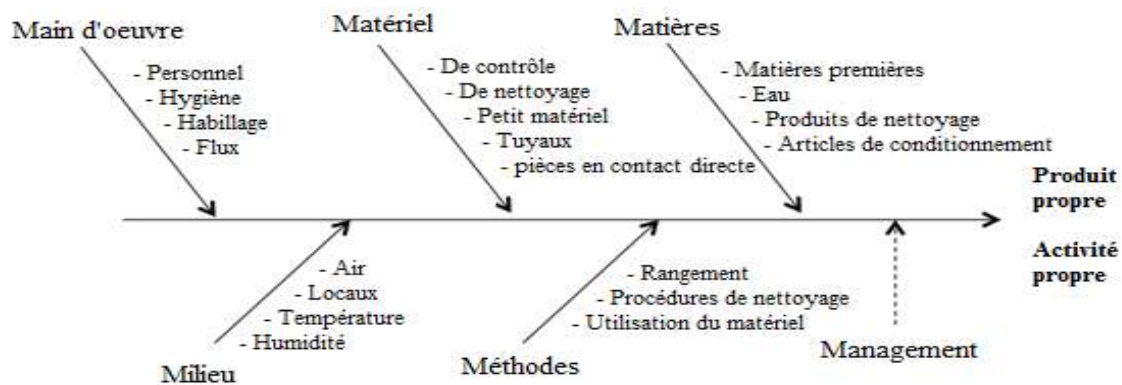


Figure 02 : Diagramme des 6 M représentant les sources de la contamination [10].

#### 3.1.1 Main d'œuvre (personnel).

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) [11].

#### 3.1.2 Milieu.

L'environnement de travail peut être le vecteur de nombreux contaminants. L'air ambiant peut véhiculer des poussières, gaz, aérosols ou microorganismes à partir des matières premières, des produits en cours de fabrication, du personnel ou du matériel utilisé dans la zone de travail, mais aussi le sol, le plafond, les surfaces,... [10, 11,12].

#### 3.1.3 Matériel.

Le matériel utilisé aux différentes étapes de la production et qui entre directement en contact avec les matières peut être à l'origine d'une contamination en cas de réutilisation d'un matériel non

nettoyé ou mal nettoyé. Une importance particulière doit être accordée au nettoyage des équipements de production et de la verrerie [2].

### 3.1.4 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 la verrerie, 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 [10, 11].

### 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 matériel, doit être défini par la technique de la marche en avant. Cela permet de réduire le risque de contamination [10].

## 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 » [11, 12]. Il s'agit donc ;

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

## 4 Maitrise de la contamination.

Le nettoyage et l'éradication de la contamination n'échappe pas au schéma global et largement répandu de toute lutte à savoir le traitement préventif et le traitement curatif [3].

### 4.1 Maitrise préventive de la contamination : Approche des 6M.

A partir du diagramme d'Ishikawa illustrant les sources et les vecteurs de la contamination (figure 03), il est possible de concevoir des moyens de prévention pouvant être mis en place pour lutter contre la contamination croisée.

### 4.1.1 Main d'œuvre (personnel).

Le personnel est l'un des points clé de cette prévention. Les BPF leur consacrent même un chapitre entier : le chapitre 2. Il est écrit que :

« La qualité de la fabrication des médicaments repose sur l'ensemble du personnel. Pour cette raison, le fabricant doit disposer d'un personnel qualifié et en nombre suffisant pour mener à bien toutes les tâches qui lui incombent. » [7].

«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 » [7].

L'hygiène du personnel est également importante pour réduire le risque de contamination des produits fabriqués. Le respect de ces règles d'hygiène doit être observé par tout individu pénétrant dans les zones de fabrication et de contrôle [10].

### 4.1.2 Milieu.

#### 4.1.2.1 Les locaux.

Selon les Bonnes Pratiques de Fabrication du Médicament (BPF), « 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. » [7].

Les BPF préconisent l'utilisation de locaux conçus pour éviter les contaminations croisées et permettre un nettoyage et un entretien efficaces. Les principes sont les suivants [11] :

- Limiter l'entrée des contaminants.
- La séparation des différentes zones de productions.
- Empêcher la sortie des contaminants.

#### 4.1.2.2 Le traitement de l'eau

L'eau entrant en contact avec les produits et les équipements. 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 [11].

#### 4.1.2.3 *Température*

Elle devra être contrôlée et rester confortable afin de ne pas incommoder les opérateurs dans la réalisation de leurs tâches [11].

#### 4.1.3 **Matériel.**

Selon le chapitre 3 des BPF partie I :

**3.36.** Le matériel de fabrication doit être conçu de façon à permettre un nettoyage facile et minutieux. Il doit être nettoyé selon des procédures écrites détaillées et rangé dans un endroit propre et sec [7].

**3.37.** Le matériel de lavage et de nettoyage doit être choisi et utilisé de façon à ne pas être une source de contamination [7].

Dans certains cas, un matériel dédié est associé à chaque produit fabriqué, dans le but de réduire le risque de contamination croisée [13].

#### 4.1.4 **Matière.**

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 [11].

#### 4.1.5 **Méthode.**

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 [11].

Les procédures de travail et de nettoyage appartiennent au système documentaire de l'entreprise, leur respect assure la reproductibilité des activités et garantit la qualité des produits [12].

#### 4.1.6 **Management.**

Le personnel doit être **motivé** et **formé** de manière spécifique. Le facteur humain est un élément fondamental pour la réussite de la maîtrise de la contamination.

L'attitude du personnel dépend essentiellement du comportement de ses dirigeants. Une volonté personnelle, une détermination de la hiérarchie à atteindre les objectifs fixés, influencera d'une manière positive le succès de la formation et son application sur le terrain [12].

## 4.2 Maitrise curative de la contamination : Nettoyage.

### 4.2.1 Définition.

On désigne par le terme « nettoyage », l'ensemble des processus qui visent à éliminer des salissures ou souillures présentes sur une surface [8].

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. » [11].

Dans la plupart des cas, le mot « souillure » ou « salissure » est remplacé par le terme « contamination » [8].

### 4.2.2 Objectif.

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.

### 4.2.3 Méthode de nettoyage.

En industrie pharmaceutique, trois types de nettoyage sont rencontrés :

#### 4.2.3.1 *Nettoyage manuel*

Le nettoyage manuel est un nettoyage direct des surfaces à la suite d'une action mécanique apportée par l'opérateur en utilisant des outils simples et un détergent approprié [10].

Le principal avantage de ce type de nettoyage est le **ciblage des zones critiques** du matériel difficilement atteignables avec d'autres types de nettoyage. Le principal inconvénient est le **manque de reproductibilité** de la méthode [11, 12].

#### 4.2.3.2 *Nettoyage automatique*

Ce type de nettoyage ne requiert aucune intervention humaine. Il est entièrement automatisé. 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. Ce type de nettoyage assure la **meilleure reproductibilité** mais requiert des **installations lourdes et coûteuses** [3,11].

### 4.2.4 Mécanisme de 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.

Cette action de détergence, combinée aux facteurs physiques de température, de temps de contact et d'action mécanique permet d'obtenir un nettoyage efficace [11].

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



**Figure 03 : Schématisation de l'action du détergent sur une souillure**

#### 4.2.4.1 *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.

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 [10,11].

#### 4.2.4.2 *Déplacement de la salissure : Mécanisme d'émulsifiassions, 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 04).

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 de cette concentration, les micelles se forment spontanément et se solubilisent ou se dispersent dans la solution de lavage [10,11].

#### 4.2.4.3 *Anti-redéposition*

Une fois la souillure est écartée de la surface, le rôle du produit détergent est d'éviter 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'agrégats et la sédimentation [11].

La surface et les micelles « souillure-détergent » portent des charges de même signe.

Ceci a pour conséquence une répulsion entre la surface et les micelles, et entre les micelles elles-mêmes. Ainsi, les souillures décrochées des surfaces restent en suspension dans l'eau de lavage [10].

#### 4.2.5 Facteurs influençant le nettoyage.

Le nettoyage est le résultat de l'interaction de 4 facteurs qui permettent d'obtenir un équipement ou une verrerie 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 [10] :

##### 4.2.5.1 *Le temps :*

Le temps (temps de contact) influence le degré d'application des processus physiques et chimiques.

##### 4.2.5.2 *La température :*

La température représente un paramètre de nettoyage important, qui influence le nettoyage en raison des propriétés suivantes :

- Processus physiques (par ex. fusion de matières solides, augmentation du pouvoir de dissolution dans l'eau etc.)
- Vitesse des processus chimiques (par ex. accélération des réactions chimiques etc.)

Le choix de la température de nettoyage optimale joue un rôle primordial pour l'impureté à éliminer.

##### 4.2.5.3 *Action mécanique :*

Elle joue un rôle primordial dans l'efficacité du nettoyage. L'action mécanique est différente si le lavage est manuel ou automatique.

L'utilisation de la mécanique assouplit les forces de liaison entre les impuretés et la surface et permet donc une élimination plus simple des impuretés. L'action mécanique, par ex. la pression et la diffusion du jet de pulvérisation, les forces de cisaillement de l'eau qui coule et le flux crée par la recirculation de l'eau, influence le résultat du nettoyage de la manière suivante :

- Exposition de toutes les surfaces externes et internes de la verrerie et des ustensiles de laboratoire à l'eau.

- Dissolution des impuretés sur la surface de la verrerie et des ustensiles de laboratoire.

#### 4.2.5.4 Action chimique :

Elle est apportée par l'utilisation d'un agent de nettoyage donné. Cette action sera dépendante du détergent choisi et de son dosage. Dans certains cas, on peut nettoyer sans détergent.

Les produits chimiques de traitement favorisent le processus de traitement par :

- Dissolution et décollage des impuretés de la surface de la verrerie et des ustensiles de laboratoire (par ex. décomposition chimique).
- Liaison des impuretés avec l'eau en recirculation (par ex. par mise en suspension, émulsification).

Le cercle de SINNER (figure 04) montre que les facteurs sont interdépendants et que leur importance peut être modifiée. La « somme totale » est constante pour un résultat de nettoyage défini. Si l'on augmente par exemple la température, il est possible de réduire l'action mécanique, la concentration en produits chimiques de traitement ou le temps d'action pour obtenir le même résultat [14].

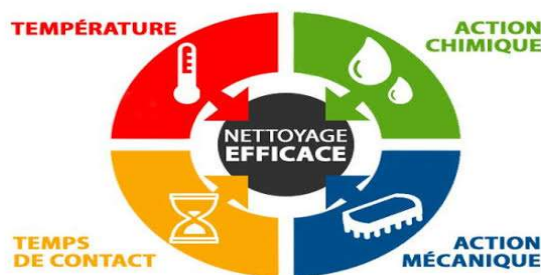


Figure 04 : Cercle de SINNER [13].

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

Il existe 10 principes à respecter pour garantir la bonne efficacité du procédé de nettoyage [15].

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 diluer ou étaler la souillure sur les surfaces.
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 processus de nettoyage doit correspondre strictement au mode opératoire décrit dans une procédure, il doit être appliqué par du personnel formé et habilité avec des moyens qualifiés.
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.

#### 4.2.7 Rinçage

Le rinçage sert à éliminer les impuretés résiduelles dissolues / décollées, ainsi que les produits chimiques de traitement utilisés de la surface de la verrerie de laboratoire.

Les rinçages intermédiaires se font généralement à froid. Si les produits chimiques de traitement avec des agents tensioactifs sont utilisés pour le nettoyage, il peut s'avérer nécessaire de chauffer un ou plusieurs rinçages intermédiaires afin de permettre une meilleure évacuation de la mousse de l'automate de nettoyage et de désinfection.

Le rinçage ultérieur est généralement effectué à une température plus élevée pour tuer les germes éventuellement présents dans l'eau ( $\geq 70$  °C) et favoriser le séchage consécutif [16].

#### 4.2.8 Choix des verreries

La mesure de volumes est d'une importance primordiale au laboratoire. L'utilisateur doit clarifier l'exactitude nécessaire pour la réalisation d'une mesure concrète.

A partir de cette évaluation, il peut choisir l'appareil qui convient à sa mesure de volume.

Des mesures exactes exigent des appareils de mesure exacts et une manipulation correcte [14].

Pour le nettoyage de la verrerie, des appareils difficilement nettoyables sont utilisés par le personnel responsable parmi ces appareils on cite quelques verreries [14,17]:

- **Pipettes**

Une pipette est un appareil de volumétrie qui sert à prélever une solution. Elle est en forme de tube plus ou moins fin (pipettes graduées) parfois élargi en son milieu (pipettes jaugées).

- **Pipettes jaugées :** La pipette jaugée, dont la contenance est fixe, permet de prélever très précisément un volume donné. La pipette jaugée ne dispose que d'une ou deux traits de jauge et est reconnue pour sa forme élargie en son milieu.
- **Pipettes graduées :** La pipette graduée dispose des graduations permettant de mesurer le volume prélevé. Ces graduations marquent des sous-unités. Cependant, la pipette graduée est intrinsèquement moins précise que la pipette jaugée.
- **Fioles jaugées**

Les fioles jaugées sont des appareils de volumétrie destinés à préparer des solutions de titre précis, comme par ex. solutions étalons et standards, et dissolutions.

- **Eprouvettes bouchées et graduées**
  - **Les éprouvettes graduées** sont des appareils de volumétrie qui indiquent exactement le volume contenu.
  - **L'éprouvette bouchée** est une éprouvette graduée à col rodé et avec bouchon en matière plastique.

Les éprouvettes bouchées peuvent être utilisées comme les fioles jaugées pour réaliser des solutions standard et des dilutions.

- **Vial HPLC**

Les Vial pour HPLC sont des flacons en verre blanc ou verre brun, avec ou sans zone de marquage, Bouchons avec septum silicone, pré percés ou non [17].

La classe d'une verrerie rend compte de son degré de précision. Le matériel de classe A est de haute précision. Celui de classe B est dit de précision courante (sa tolérance est de l'ordre d'une fois et demi celle de la classe A) [18].

#### 4.2.9 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 de la verrerie (protocoles, rapports, procédures, modes opératoires, fiches techniques, fiches de suivi, enregistrements ... etc.) [11].



---

## **CHAPITRE III**

# **VALIDATION DU NÉTOYAGE DE LA VERRERIE DE LABORATOIRE**

---

## 1 Validation

Avant d'envisager toute validation, certaines démarches doivent avoir été effectuées, il s'agit de :

- La rédaction de la procédure de nettoyage.
- La qualification du matériel et des agents de nettoyage.
- La qualification des locaux et des équipements à nettoyer.
- La qualification du personnel chargé du nettoyage [19].

« Validation : établissement de la preuve, en conformité avec les principes des Bonnes Pratiques de Fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement, produit, activité ou système, permet réellement d'atteindre les résultats escomptés » [12].

La norme ISO 8402 définit la validation comme étant « la confirmation par examen et apport de preuves tangibles que les exigences particulières pour un usage spécifique prévu sont satisfaites ». Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) [10].

La FDA définit la validation comme étant « Etablissement de l'évidence documentée qui prouve un haut degré d'assurance qu'un processus spécifique produira de façon constante un produit conforme avec ses spécifications prédéterminées et les attributs de la qualité » [19].

## 2 La validation de nettoyage (VN)

Selon les bonnes pratiques de fabrication « 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 » [11].

La validation du nettoyage doit être considérée comme l'un des moyens mis à la disposition du fabricant pour lutter contre les risques de contamination en général, et plus particulièrement les risques de contamination croisée. Ce moyen fait partie des actions d'assurance de la qualité communément mises en œuvre [19].

## 3 Stratégies de validation de nettoyage

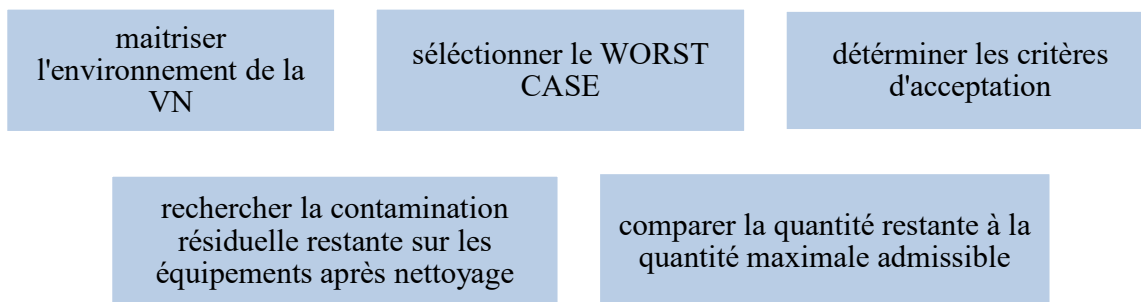
Il peut y avoir plusieurs manières pour valider un procédé de nettoyage.

**Valider quoi?** Seules les procédures de nettoyage applicables aux surfaces de l'équipement en contact avec les produits doivent être validées.

**Valider quand ?** Les intervalles entre l'utilisation et le nettoyage, entre fin d'utilisation et début de nettoyage ainsi qu'entre le nettoyage et la réutilisation doivent être validés.

**Valider comment ?** S'agissant des procédures de nettoyage applicables à des produits et des procédés similaires, la sélection d'une gamme représentative de produits et de procédés similaires est jugée acceptable. Une seule étude de validation peut être réalisée en se fondant sur la méthode du "pire cas" qui tient compte des points critiques.

Le principe de la VN est énoncé par les BPF et consiste à fixer logiquement les teneurs limites en résidus, produits de nettoyage et contamination microbienne en fonction des matériaux et des produits utilisés. Ces limites doivent pouvoir être atteintes et vérifiées [20].



#### 4 Aspects réglementaires et normatifs

Les BPF exigent que les opérations de nettoyage soient validées ; « les teneurs limites en résidus doivent d'autre part être fixées logiquement et pouvoir être atteintes grâce à une méthode analytique validée » [7]

En 1993, la FDA a rédigé un guide à l'usage de ses inspecteurs spécifiquement axé sur la validation du nettoyage et précisant les grandes lignes d'une démarche de validation.

La validation des procédés de nettoyage des surfaces critiques est maintenant une obligation ; elle est considérée comme un point critique lors d'audits ou d'inspections par des agences européennes ou américaines. Elle prouve que les procédés de fabrication sont mis en œuvre dans les locaux et avec du matériel propre, et contribue par là même à la pureté du produit fabriqué [12].

#### 5 Différents types de validation

La validation de nettoyage est donc nécessaire pour les raisons suivantes :

- C'est une exigence réglementaire,
- C'est une exigence du client : elle garantit la sécurité et la pureté du produit,
- Elle assure la qualité du procédé de nettoyage par un contrôle interne.

Il existe 3 types de validation [12].

### 5.1 Validation prospective :

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

### 5.2 Validation simultanée (concourante ou concomitante) :

Validation réalisée durant la Production de routine de produits destinés à la vente. C'est la démarche adoptée dans la Plupart des cas, puisque la validation de nettoyage est une exigence relativement récente, Et souvent la procédure de nettoyage est appliquée avant d'avoir été validée

### 5.3 Validation rétrospective :

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

## 6 Critères d'acceptation

Aucunes limites maximales de contamination ne sont fixées par les autorités, car chaque industrie présente des situations différentes. Le Guide d'inspection de la FDA recommande donc aux entreprises de fixer leurs propres limites selon les machines et les produits en leur possession, de manière logique et justifiée.

Les bonnes pratiques de fabrication précisent que « les critères d'acceptation doivent considérer l'effet cumulatif potentiel des différents éléments des équipements utilisés dans le train d'équipement du procédé [13].

Les méthodes de détermination des limites à respecter dans des conditions données dans les études de validation des procédés de nettoyage sont un choix du fabricant, les limites doivent être pratiques, accessibles et vérifiables. L'objectif des inspections est de s'assurer que toutes les limites établies sont scientifiquement justifiables [21].

### 6.1 Critère d'acceptation visuel

Il importe de procéder à une inspection visuelle en plus d'effectuer des analyses afin de s'assurer que le procédé est acceptable. Il s'agit du contrôle du niveau organoleptique de la contamination résiduelle limité par l'absence de résidus visibles [20].

### 6.2 Critère de 10 ppm

Le critère de 10 ppm est un critère empirique qui découle des limites de détection des méthodes analytiques. Il signifie qu'on ne doit pas retrouver plus de 10 parties d'un produit A dans un million de parties d'un produit B, autrement dit on ne doit pas avoir plus de 10 mg de A dans 1 kg de B. Il est exprimé en mg. [22].

## 7 Méthodes de prélèvements

Différents moyens d'échantillonnage sont employés dans l'industrie pharmaceutique. Le choix de la méthode doit permettre la mesure quantitative des traces de produit présentes après l'étape de nettoyage. [23]

### 7.1 Types de prélèvements :

Les méthodes de prélèvement directes sont attendues prioritairement par les agences. C'est à-dire les prélèvements par écouvillonnage ou essuyage. On ne peut argumenter de ne pas choisir ces méthodes au regard de la difficulté à démonter les équipements. Il y aura bien des opérations de maintenance programmées avec démontage...

Dans ce premier cas, c'est le plan d'échantillonnage que sera la clé de voute de la pertinence des prélèvements. La logique du plan d'échantillonnage figurera dans le plan maître de validation.

En cas d'impossibilité de prélèvement direct sur la surface (et seulement dans ce cas), les méthodes de rinçage sont admises. On aura alors le choix entre trois options :

- Prélèvement dans le dernier cycle de rinçage de la méthode de nettoyage.
- Effectuer un rinçage supplémentaire (possibilité de réduire le volume et de choisir un autre solvant).
- Travailler par trempage et agitation pour les petites pièces [19,23].

## 8 Les méthodes d'analyses

Dans la validation de nettoyage, les méthodes de microbiologie sont employées pour la recherche des microorganismes type bactéries. Les méthodes analytiques quant à elles s'appliquent pour la recherche des contaminants de nature chimique issus soit des matières des lots précédents ou des produits de nettoyage utilisés [19].

### 8.1 Analyses microbiologiques

Pour l'analyse microbiologique, il existe des méthodes décrites par la pharmacopée et des méthodes nouvelles issues de l'industrie agro-alimentaire mais qui pourraient être appliquées dans l'industrie pharmaceutique. Le choix de la méthode se fait en fonction de la surface à prélever et du type d'échantillons (Boîtes contact, écouvillon, eaux de rinçage) [24,25].

### 8.2 Analyses physico chimiques

Les différentes méthodes d'analyse varient de la plus simple à la plus complexe, et selon la manière dont les échantillons doivent être préparés pour les analyses. Les méthodes utilisées, leurs caractéristiques, avantages, inconvénients et applications sont détaillés dans le tableau suivant:

Tableau I : Avantages, Inconvénients et Applications des différentes méthodes d'analyse

[19].

Avantages	Inconvénients	Application
<b>Observation des caractères organoleptiques</b>		
Simple, Résultat immédiat, Non invasif, Pas de préparation d'échantillon	Qualitatif Non spécifique	Résidus chimiques Excipients Agent de nettoyage
<b>Mesure du Ph</b>		
Rapide Peu coûteux Peut être adapté à la surveillance en ligne.	Non spécifique pour composés solubles dans l'eau	Agent de nettoyage
<b>Résistivité / Conductivité</b>		
Rapide Peut être adapté à la surveillance en ligne	Non spécifique	Agent de nettoyage
<b>Dosage Acide / Base</b>		
Quantification précise Seuil de détection Satisfaisant	Non spécifique	Agent de nettoyage
<b>Perte à la dessiccation</b>		
Spectre large Simple et peu coûteux	Non spécifique	Résidus chimiques Excipients Agents de nettoyage
<b>Spectrophotométrie</b>		
Plus sensible, peu spécifique.	Résidus chimiques	Excipients
<b>CCM (Chromatographie Sur Couche Mince)</b>		
Spécifique Peu coûteux	Sensibilité insuffisante dans certains cas.	Résidus chimiques Excipients
<b>HPLC (Chromatographie Liquide à Haute Performance)</b>		
Suffisamment sensible et spécifique. Quantification précise	Appareillage et personnel qualifiés nécessaires Méthode plus coûteuse	Résidus chimiques Excipients
<b>CPG (Chromatographie En Phase Gazeuse)</b>		
Mêmes caractéristiques que l'HPLC		Résidus chimiques Excipients Composés volatils
<b>COT (Carbone Organique Total)</b>		
Applicable aux produits organiques et hydrosolubles Haute sensibilité	Non spécifique Appareillage coûteux	Résidus chimiques Excipients Agent nettoyage Protéines

### 8.2.1 Méthodes non spécifiques

Les méthodes non spécifiques mesurent un résultat sans déterminer à quel composant il est dû. Elles sont souvent considérées comme moins fiables que les méthodes spécifiques.

- **Conductivité**

La conductivité est la mesure de la capacité de l'eau à conduire un courant électrique. Elle varie en fonction de la présence d'ions, de leur concentration et de la température. Le point de repère utilisé est à 20 °C.

- **pH**

Le pH exprime le niveau d'acidité de l'eau. Il se mesure sur une échelle de 0 à 14. Un pH neutre se situe à 7.0. Il est à noter qu'un PH de 6.0 est dix (10) fois plus acide qu'un pH de 7.0 et un PH de 6.0 est cent (100) fois plus acide qu'un pH de 8.0. Un pH acide dans l'eau aura pour effet de corroder la tuyauterie et le chauffe-eau causant des dommages irréversibles [26].

- Méthode utilisée pour la recherche des traces de détergent.

- Le résultat est obtenu sur le lieu de prélèvement.

- **Spectrophotométrie UV-visible**

La spectrométrie d'absorption moléculaire dans le domaine ultraviolet (UV), de 185 à 380 nm environ, et visible (VIS), de 380 à 800 nm environ, est une technique courante de contrôle et d'analyse de composés chimiques [27].

- Lecture directe possible mais quantification moins spécifique.

- Quantification peu spécifique.

### 8.2.2 Méthodes spécifiques

- **HPLC : Chromatographie en phase liquide**

La chromatographie est une méthode analytique qui permet de séparer les composés d'un mélange, les identifier et les doser.

La séparation est due à la différence d'affinité des substances lorsqu'elles sont dissoutes dans une phase mobile et qu'elles migrent sur une phase stationnaire.

Il existe 3 techniques de chromatographie :

La chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide, dont fait partie la chromatographie liquide haute performance (HPLC).

Nous ne développerons que cette dernière, qui est la méthode employée lors de notre validation [28].

## 9 Différentes approches de la validation.

### 9.1 Approche basée sur le pire cas « WORST-CASE».

#### 9.1.1 Définition.

Condition ou ensemble de conditions englobant les circonstances et les limites opérationnelles supérieures et inférieures, dans les limites des procédures opératoires, comportant le plus grand risque de défaillance du produit ou du procédé comparé aux conditions idéales. Ces conditions n'entraînent pas nécessairement la défaillance du produit ou du procédé [29].

Comme toute étude de validation, la validation de nettoyage doit inclure les conditions « worst case ». A ce propos, les BPF stipulent qu' « Une seule étude de validation peut être réalisée en se fondant sur la méthode du « pire des cas » ». En effet, les sites pharmaceutiques, notamment les sites de production, se caractérisent par la diversité des produits fabriqués. Dans ce cadre, la mise en place de la validation de nettoyage laisse envisager des validations longues, et par conséquent très coûteuses [7,12].

#### 9.1.2 Détermination du pire des cas.

Il est présumé que si une verrerie devient propre dans les conditions défavorables, elle sera aussi nettoyée dans les conditions plus favorables.

Il faut créer un tableau récapitulatif de tous les produits fabriqués sur le site avec les critères suivants afin de déterminer le produit « worst-case »:

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

Chacun de ces critères est quantifié et un coefficient indiquant son importance lui est attribué.

Un score final résulte de la multiplication des coefficients précédents. Le produit pire cas correspond à celui ayant le score le plus élevé [30].

##### 9.1.2.1 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.

Le produit avec des composants actifs peu solubles pourrait être choisi comme produit « worst case » [8].

### 9.1.2.2 Critère – Nettoyabilité

La Nettoyabilité d'un médicament est l'aptitude d'un procédé à ne pas laisser des traces visibles après le nettoyage.

Un critère qui peut être utilisé est l'expérience de la production en ce qui concerne la façon dont une substance est difficile à nettoyer. Un opérateur qualifié et expérimenté dans le nettoyage est souvent consulté pour noter ce critère [8,11].

### 9.1.2.3 Critères de décision

Le choix d'un produit pire cas (appelé aussi worst case) est fait en fonction des données de solubilité, de nettoyabilité. Le traceur est défini comme étant ; Le composé le plus insoluble et le plus difficile à nettoyer [11].

## 9.2 Nouvelle approche décrite par la pharmacopée américaine.

Les dosages et tests de pharmacopée dépendent de la propreté de l'appareil de verrerie utilisé. Pour cette raison, des détergents commerciaux ou des réactifs inorganiques pour le nettoyage doivent être utilisés si nécessaire.

Dans tous les cas, il est important de vérifier que la procédure de nettoyage est appropriée pour le test ou l'essai particulier utilisé. Ceci peut être accompli de plusieurs manières, y compris l'utilisation de contrôles expérimentaux ou la vérification du nettoyage en utilisant des tests de résidus/résidus pour assurer l'élimination de tout contaminant potentiel. Le protocole de nettoyage doit inclure une déclaration décrivant comment le succès de la procédure de nettoyage sera évalué.

### 9.2.1 Bonnes pratiques de validation de nettoyage

La validation d'un processus de nettoyage peut impliquer à la fois une évaluation qualitative et quantitative des performances de nettoyage et peut être suivie d'évaluations spécifiques de la propreté adaptées à l'utilisation prévue.

Une procédure de nettoyage établie peut nécessiter une revalidation lorsque des modifications importantes sont apportées à la procédure ou lorsque l'utilisation prévue de la verrerie change. Le schéma suivant illustre cette stratégie :

Procédure générale de validation du nettoyage pour une utilisation générale en laboratoire :

#### 9.2.1.1 Évaluation qualitative du processus de nettoyage.

- Prélever une charge sale dans le pire des cas selon l'utilisation prévue ou préparer une charge en appliquant une formulation avec indicateur fluorescent.

- Inspectez la verrerie avec une lampe UV ou une lumière noire pour vérifier la couverture appropriée avec un indicateur fluorescent.

Effectuer le nettoyage avec le processus à valider.

- Inspectez la verrerie avec une lampe UV ou une lumière noire pour évaluer qualitativement la propreté.

### 9.2.1.2 *Évaluation quantitative du processus de nettoyage.*

- Effectuez un rinçage de la verrerie avec de l'eau purifiée.

Recueillir l'eau de rinçage.

- Test par carbone organique total (643) et conductivité de l'eau (645).

3. Effectuer des évaluations de validation (chimiques) supplémentaires selon les besoins de l'utilisation prévue.

- *Évaluation qualitative du processus de nettoyage*

Un colorant/indicateur fluorescent est utile pour déterminer qualitativement un processus ou une procédure de nettoyage est capable d'appliquer une solution de nettoyage si nécessaire et d'éliminer complètement la solution. Deux indicateurs fluorescents sont couramment utilisés pour ce type d'évaluation qualitative d'un processus de nettoyage : la riboflavine et la fluorescéine. La solution d'indicateur fluorescent du tableau 1 peut être préparée avec peu ou pas d'agent augmentant la viscosité (par exemple, l'hydroxyéthylcellulose [HEC]) si la solution remplit complètement l'équipement à nettoyer. Un agent augmentant la viscosité (par exemple, 5 g/L de HEC) est recommandé si la solution doit être pulvérisée dans ou sur l'équipement

. La concentration de l'indicateur fluorescent peut être augmentée si une plus grande sensibilité est requise.

La présence ou l'absence de l'indicateur fluorescent peut être évaluée à l'aide d'une lumière noire ou d'une lampe UV avec une excitation (sortie) d'environ 365 nm (gamme UVA).

Tableau II : Recette recommandée pour les solutions d'indicateurs fluorescents utilisées dans les expériences de validation de nettoyage

Ingrédient	CAS	Fonction	centration g/l
Riboflavine ou fluorescéine Disodique	3-88-5) 18-47-8)	Indicateur Fluorescent	0.2
hydroxyéthyl Cellulose	04-62-0)	Agent augmentant la viscosité	0-5
Eau purifiée	32-18-5]	Solvant	quantum satis

\*Natosol 250 HHR ou équivalent.

- *Évaluation quantitative du processus de nettoyage*

Pour une évaluation quantitative du nettoyage, l'approche recommandée consiste à suivre le processus de nettoyage en rinçant la verrerie avec de l'eau de qualité appropriée (par exemple, de l'eau purifiée) et en collectant l'eau de rinçage. Les propriétés de cette eau de rinçage sont évaluées pour déterminer si des contaminants sont présents à des niveaux suffisants pour affecter de manière significative les propriétés de l'eau de rinçage et l'utilisation analytique impliquée de la verrerie. La quantité d'eau de rinçage utilisée doit être proportionnelle aux quantités décrites dans les méthodes, qui se sont avérées bonnes pour évaluer la propreté de la verrerie rincée.

Les résultats de ces essais du chapitre général doivent montrer que les propriétés de l'eau de rinçage ne sont pas significativement modifiées après le rinçage de la verrerie ou restent conformes au niveau de propreté requis pour la verrerie. La détermination du niveau de propreté nécessaire doit être basée sur les risques et tenir compte de l'utilisation prévue et du ou des tests analytiques impliqués.

## 10 Système documentaire.

La validation repose sur la documentation. Le document indispensable pour la mise en place d'un projet de validation c'est le plan directeur de validation.

### 10.1 Critères de validation analytique

La démarche de validation passe en pratique par la mise en place d'un certain nombre de critères. De façon exhaustive, ces critères sont listés ci-dessous [31] ;

- 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.

### 10.2 Définitions des critères de validation

Les définitions retenues sont décrites dans le guide de validation de la SFSTP 2003 (démarche harmonisée) [31].

### 10.2.1 Spécificité/ Sélectivité

« 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 ».

### 10.2.2 Fonction de réponse

« 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 »

### 10.2.3 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 (exemple : concentration) en analyte dans l'échantillon »

### 10.2.4 Justesse (biais)

« La justesse exprime l'étroitesse de l'accord 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 ».

### 10.2.5 Fidélité

- 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 ».

### 10.2.6 Exactitude

« L'exactitude exprime l'écart de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée, aussi appelée « valeur conventionnellement vraie ». L'écart de l'accord ainsi observé 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.

### 10.2.7 Limite de détection et de quantification

« 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 ».

« 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 ».

### 10.2.8 Intervalle de dosage

« 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 ».

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.

**-Standards de validation (SV) :** solution 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).

## 10.3 Etude statistique de la validation analytique

### 10.3.1 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.

- 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.

### 10.3.2 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 [35].

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.

Tableau III : Exemples de fonction de réponse [32].

Type	Equation	Paramètres	Linéarité
Droite passant par l'origine	$Y = \beta X$	$\beta$	Oui
Droite	$Y = \alpha + \beta X$	$\beta, \alpha$	Oui
Fonction quadratique	$Y = \alpha + \beta X + \gamma X^2$	$\beta, \alpha, \gamma$	Oui
Fonction logistique à 4 paramètres	$Y = \alpha + \frac{\delta - \alpha}{1 + (X/\gamma)^\beta}$	$\beta, \alpha, \gamma, \sigma$	Non
Fonction logistique à 5 paramètres	$Y = \alpha + \frac{\delta - \alpha}{1 + \left[\left(\frac{X}{\gamma}\right)^{\beta\varphi}\right]}$	$\beta, \alpha, \gamma, \sigma, \varphi$	Non

Très vraisemblablement, la plupart des méthodes physicochimiques auront recours à la droite (passant par 0 ou non).

### 10.3.3 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  $y_{ijk,c}$  [35]. 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  $n_j$  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  $x_{ijk}$

$y_{ijk,c}$  : Réponse instrumentale alignée sur la concentration moyenne  $\bar{x}_{ij}$

Tableau IV : Règles d'alignement pour différentes fonctions de réponse [32].

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	$y_{ijk,c} = y_{ijk} + (\hat{\delta}_i - \hat{\alpha}_i) \left[ \frac{1}{1 + \left(\frac{\hat{\gamma}_i}{\bar{x}_{ij}}\right)^{\hat{\beta}_i}} - \frac{1}{1 + \left(\frac{\hat{\gamma}_i}{x_{ijk}}\right)^{\hat{\beta}_i}} \right]$

### 10.3.4 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 V.

Tableau V : Calcul des prédictions inverses pour différentes fonctions de réponse [32].

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	$x_{ijk,calc} = \hat{\gamma}_i \left( \left( \frac{\hat{\delta}_i - \hat{\alpha}_i}{y_{ijk} - \hat{\alpha}_i} - 1 \right)^{\frac{1}{\hat{\phi}_i}} \right)^{\frac{1}{\hat{\beta}_i}}$

**Note :**

- Si les observations ont été alignées, il convient de remplacer les valeurs de  $y_{ijk}$  par celles de  $y_{ijk,c}$  dans le tableau précédent.
- Si une transformation a été utilisée il est demandé de réaliser les transformations inverses après ce calcul en retour [35].

### 10.3.5 Calcul de la justesse et de la fidélité

- **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 » [32].

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

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  $\sigma^2_{B,j}$ .
- $\epsilon_{ijk}$  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 [35].

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

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

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

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

- $\bar{x}_{ij,calc}$  : 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 [35];

- Si  $MSE_j < MSM_j$

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

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

- Si  $MSE_j > MSM_j$  ;

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

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

- **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 » [32].

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

$$\begin{aligned} \mathbf{biais}_j &= \hat{\mu}_j - \bar{x}_j \\ \mathbf{biais}(\%)_j &= 100 \times \frac{\hat{\mu}_j - \bar{x}_j}{\bar{x}_j} \\ \mathbf{Recouvrement}(\%)_j &= 100 \times \frac{\hat{\mu}_j}{\bar{x}_j} \end{aligned}$$

Avec :

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

- **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 » [35] :

$$\begin{aligned} \mathbf{Répétabilité:} \quad \hat{\sigma}_{Re,j}^2 &= \hat{\sigma}_{W,j}^2 \\ \mathbf{Fidélité intermédiaire:} \quad \hat{\sigma}_{IP,j}^2 &= \hat{\sigma}_{W,j}^2 + \hat{\sigma}_{B,j}^2 \\ \mathbf{CV}_{répétabilité} &= 100 \hat{\sigma}_{W,j} / \bar{x}_{j,calc} \\ \mathbf{CV}_{Fidélité intermédiaire} &= 100 \hat{\sigma}_{IP,j} / \bar{x}_{j,calc} \end{aligned}$$

### 10.3.6 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 :

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

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 :

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

### 10.3.7 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 [32].

### 10.3.8 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 [32].

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 [32] : Avec ;

$$E_{\hat{\mu}_M \hat{\sigma}_M} \left\{ P_x \left[ \hat{\mu}_M - k \hat{\sigma}_M < X < \hat{\mu}_M + \frac{k \hat{\sigma}_M}{\hat{\mu}_M}, \hat{\sigma}_M \right] \right\} = \beta$$

$$\hat{\sigma}_{F,I,j}^2 = \hat{\sigma}_{W,j}^2 + \hat{\sigma}_{B,j}^2$$

$$R_j = \frac{\hat{\sigma}_{B,j}^2}{\hat{\sigma}_{W,j}^2}$$

$$B_j = \sqrt{\frac{R_j + 1}{nR_j + 1}}$$

$$v = \frac{(R + 1)^2}{\frac{(R + 1/n)^2}{P - 1} + \frac{1 - 1/n}{p_n}}$$

$$Q_t \left( v; \frac{1 + \beta}{2} \right)$$

$n$  : nombre de répétitions

$p$  : nombre de séries

$\vartheta$  : Degré de liberté

$\beta$  ( $\beta$ -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  $\lambda$

$Q_t$  : Quantile  $\beta$  de la distribution  $t$  de Student à  $\vartheta$  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 [32].

### 10.3.9 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 [35] :

$$L_j = \text{biais}(\%)_j - Q_t \left( v; \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{PnB_j^2} CV_{F,I,j}}$$

$$U_j = \text{biais}(\%)_j + Q_t \left( v; \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{PnB_j^2} CV_{F,I,j}}$$

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 inférieure, en valeur absolue à  $\lambda$  sera au moins égale à  $\beta$ .

$$\text{prob}(|X - V| < \lambda) \geq \beta$$

### 10.3.10 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).

### 10.3.11 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)) [32].

### 10.3.12 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 » [32].

## 10.4 Le rapport de validation.

Le rapport de validation est établi après la validation. Ce document a pour fonction d'analyser les données brutes dans le but de prendre une décision ou de traduire une tendance.

Le principe de la validation et les critères d'acceptation doivent être rappelés.

Si la période de mise en œuvre, si les personnes en charge de la validation ou si les conditions opératoires ont été différentes de celles mentionnées dans le protocole, ces différences doivent être justifiées.

Les résultats doivent être présentés de façon synthétique. Ils doivent donner lieu à une analyse. Celle-ci est discutée par rapport aux critères requis. Les conclusions du rapport doivent être claires et objectives. Elles doivent conduire à des propositions et des recommandations pour améliorer, changer ou entériner les procédures de nettoyage [17].



---

**PARTIE PRATIQUE**

**VALIDATION DU NETTOYAGE DE LA VERRERIE**

---



---

# **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

---

## Matériel et méthodes

Ce présent travail a pour objet de valider une méthode de dosage de l'irbesartan à l'état de traces par HPLC dans le but de validation de nettoyage de la verrerie. 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.

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire de Contrôle qualité de Tabuk pharmaceuticals à Blida, et cela conformément au protocole de validation analytique décrit dans le guide de validation élaboré par une commission de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutique (SFSTP), publié dans la revue STP Pharma Pratique en janvier 2006.

### 1 Matériel et méthodes

#### 1.1 Matériel

Tableau VI: Liste du matériel de contrôle utilisé.

Désignation	Marque	Usage
HPLC	Waters, alliance - détecteur UV	Dosage (obtention des chromatogrammes)
Sonicateur	ISOLAB	Solubilisation, dégazage et nettoyage
Agitateurs Magnétique	MULTISTIRRER	Homogénéisation des Solutions
Balances Analytiques	METLER TOLEDO	Pesée
pH-mètre	METLER TOLEDO	Mesure de pH

Tableau VII: Liste de la verrerie utilisée.

Verreries	Autres
<ul style="list-style-type: none"><li>- Fioles jaugées : 10 ml, 20 ml, 50 ml, 100 ml.</li><li>- Erlenmeyer pour la phase mobile et la solution tampon.</li><li>- Bêchers de 250 ml.</li><li>- Eprouvettes : 1000 ml, 2000 ml.</li><li>- Pipettes graduées de 5 ml.</li><li>- Pipettes jaugées : 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml.</li><li>- Vials.</li><li>- Entonnoirs.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Poires.</li><li>- Spatules.</li><li>- Barreaux magnétiques.</li><li>- Micropipette.</li><li>- Flacon pour la phase mobile.</li><li>- Sabot de pesée.</li></ul>

Tableau VIII : Liste des matières premières utilisées.

Matières premières	Provenance
Principes actifs : Irbesartan	Tabuk pharmaceuticals

## Matériel et méthodes

Tableau IX : Liste des réactifs utilisés.

Réactifs	provenance	Données physicochimique
Acide phosphorique	VWR	Formule brute : $H_3PO_4$ N° CAS : 7664-38-2 Mr: 98,00 g/mol $\rho$ : 1,83 g / cm <sup>3</sup>
Triéthylamine	SIGMA ALDRICH	Formule brute : $C_6H_{15}N$ N° CAS : 121-44-8 Mr: 101,19 g/mol $\rho$ : 0,727 g / cm <sup>3</sup>
Méthanol	VWR	Formule brute : $CH_4O$ N° CAS : 67-56-1 Mr: 32,04 g/mol $\rho$ : 0,79 g / cm <sup>3</sup>
Acétonitrile	VWR	Formule brute : $C_2H_3N$ N° CAS : 75-05-8 Mr: 41,05 g/mol $\rho$ : 0,8g / cm <sup>3</sup>
Eau purifiée	VWR	Formule brute : $H_2O$ N° CAS : 7732-18-5 Mr: 18 g/mol $\rho$ : 1 g / cm <sup>3</sup>

## 1.2 Méthodes

La méthodologie de validation du nettoyage de la verrerie selon l'approche pires cas repose sur les éléments suivants ;

- Choix du pire cas.
- Détermination des critères d'acceptation.
- Validation de la méthode de dosage du contaminant à l'état de traces.
- Validation du procédé de nettoyage.

### 1.2.1 Choix du worst case

Le choix d'un produit « worst case » a pour objectif de réduire le nombre d'essai à mettre en œuvre lors de la validation de nettoyage. On ne validera que le produit pire des cas, les produits moins critiques sont alors validés [30].

Ce produit est déterminé selon différents critères :

#### 1.2.1.1 Solubilité

La solubilité aqueuse est cotée comme décrit ci-dessous.

## Matériel et méthodes

Tableau X : Grille de cotation de la solubilité aqueuse des principes actifs [10].

Descriptif	Note de criticité	Solubilité
Très facilement soluble à soluble	1	>1000 mg/ml
Soluble à assez soluble	2	1- 999 mg/ml
Peu à très peu soluble	3	0.1- 0.99 mg/ml
Pratiquement insoluble	4	< 0.1 mg/ml

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

### 1.2.1.2 Nettoyabilité

Une classification des principes actifs par difficulté de nettoyage (facilité d'élimination par rapport à la méthode choisie) et selon l'expérience acquise.

La nettoyabilité est cotée comme décrit ci-dessous.

Tableau XI : Grille de cotation de la nettoyabilité des principes actifs [10].

Descriptif	Note de criticité	Nettoyabilité
Visuellement propre après nettoyage à l'eau sanitaire sans frotter	1	Très facile
Visuellement propre après nettoyage à l'eau sanitaire en frottant	2	Facile
Visuellement propre après nettoyage au détergent en frottant	3	Difficile
Visuellement sale après nettoyage au détergent en frottant	4	Très difficile

### 1.2.1.3 Méthode de détection

Tableau XII : Grille de cotation de la méthode de détection des principes actifs.

Méthodes de détection	Note de criticité
Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)	4
Spectroscopie Ultraviolet- Visible (UV-V)	3

A partir de ces informations, les produits sont évalués et classifiés du moins critique au plus critique. Le produit des trois notes donne la note globale au principe actif [10].

**Résultats :** Le produit P (score) des coefficients des critères de sélection le plus élevée correspond à la matière première pire cas.

**Score = Indice de solubilité x indice de Nettoyabilité x indice de méthode de détection.**

**Note :** Au cas d'égalité des valeurs de P (plus élevée), l'hierarchie des critères est donnée comme suit ;

### Nettoyabilité > Solubilité > Méthode de détection

D'après les tableaux XIV et XV de la partie résultats et discussion, **l'irbesartan** matière première est choisie comme produit pire cas pour la validation du nettoyage de la verrerie.

#### 1.2.2 Critères d'acceptation

Critère d'acceptation pour le principe actif est : 3µg/mL

#### 1.2.3 Validation de la méthode de dosage du contaminant à l'état de traces.

Le traceur retenu est **l'irbesartan**. Les taux résiduels tolérés dans le cadre de la validation du nettoyage de la verrerie doivent être inférieurs à la limite d'acceptation (exprimée en unité de concentration).

La présente partie consiste à établir un protocole de validation analytique de la méthode de dosage de l'irbesartan à l'état de traces dans les eaux de rinçage.

La validation analytique a été réalisée 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.

##### 1.2.3.1 Choix du protocole de validation analytique

Le protocole adopté dans notre étude est le **V2** en utilisant **5 niveaux de concentrations** pour les **Standards d'étalonnages** et les **Standards de validation**.

##### 1.2.3.2 Choix des paramètres de validation

- Limite d'acceptation ( $\lambda$ ) :  $\lambda = \pm 10\%$ .
- Probabilité de confiance ( $\beta$ ) :  $\beta = 90\%$ , on choisit  $\geq 90\%$  dans le domaine pharmaceutique.
- Risque d'erreur accepté ( $\alpha$ ) : 10%.

##### 1.2.3.3 Mise au point d'une procédure analytique

L'irbesartan à l'état de traces est dosé par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) à détection UV.

###### ➤ Préparation des solutions

**Solution tampon pH = 3** : A 1000 mL d'eau purifiée, ajouter 7,8 mL de triéthylamine dilué, agiter et ajuster le pH à  $3 \pm 0,05$  avec l'acide phosphorique.

**Phase mobile** : Tampon pH = 3 /Acétonitrile /Méthanol (42% : 18% : 40%).

**Diluant (milieu de dilution)** : Correspond à la phase mobile.

- Préparation du standard étalon et du standard de validation :

## Matériel et méthodes

Trois séries (03 jours) comprenant chacune 05 niveaux de concentration sont préparés à raison de 02 répétitions pour le standard étalon et 03 répétitions pour le standard de validation.

### - Solution standard de l'irbesartan:

Dans des fioles jaugées de 100 mL, peser les différentes masses correspondant à chaque niveau de concentration de l'irbesartan, Dissoudre dans des volumes suffisants du diluant, mettre à l'ultrason pour une dissolution totale puis compléter au trait de jauge avec le même diluant (phase mobile).

Tableau XIII : Tableau présentant les masses théoriques des niveaux de concentration de l'irbesartan.

Niveaux de concentration en %	33.33	66.66	100	133.33	166.66
Masse théorique de l'Irbesartan en mg	10	20	30	40	50

### - Solutions standards d'étalonnage

Dans des fioles jaugées de 100 mL, introduire 1mL de la solution standard de l'irbesartan, compléter au trait de jauge avec le diluant. Effectuer deux répétitions pour chaque niveau de concentration.

### - Solutions standards de validation

Dans des fioles jaugées de 100 mL, introduire 1mL de la solution standard de l'irbesartan, compléter au trait de jauge avec l'eau purifié. Effectuer trois répétitions pour chaque niveau de concentration.

### ➤ Conditions chromatographiques

Colonne : inertsil C8-4 ; longueur =150 mm, diamètre interne = 4.6 mm, taille des particules = 5µm ou l'équivalent.

Longueur d'onde : 237 nm (UV détecteur).

Débit : 1.5 mL/min.

Volume d'injection : 20 µl

Température colonne : 25°C

Température échantillons: 5°C

Temps de rétention : 5 min

### ➤ Préparation de la feuille de calcul

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 ln-ln
- Régression linéaire après transformation racine-racine

L'étude statistique et l'établissement des profils d'exactitude sont réalisés par le logiciel **ENOTAL version 4.0** on line.

### 1.2.4 Validation du procédé de nettoyage

La méthode de validation du nettoyage de la verrerie est basée sur la recherche des traces du principe actif (irbesartan) dans les eaux de rinçages.

#### 1.2.4.1 *Nettoyage manuel*

Après utilisation, le contenu de la verrerie doit être vidé selon les règles préétablies de destruction. Ensuite un rinçage est fait abondamment avec l'eau brute. La verrerie est mise le plus rapidement possible dans un bain de trempage rempli préalablement avec la solution de nettoyage ex: anioserile DDN 2% afin d'éviter l'incrustation de résidus séchés.

Le temps d'action suffisant est de minimum 15 minutes.

Pour les vials utilisés en analyses chromatographiques sont immergés dans la solution de nettoyage et systématiquement mis aux ultrasons pendant 10 minutes suivi d'un rinçage autant (au moins trois fois), avec l'eau brute, qu'avec l'eau purifiée.

Après élimination de la solution de lavage, toute la verrerie est rincée soigneusement avec de l'eau brute, puis rincée au minimum deux fois avec l'eau purifiée. Le matériel rincé est par la suite laissé sécher sur l'égouttoir et après dans une étuve de séchage.

#### 1.2.4.2 *Prélèvements réalisés*

Les prélèvements sont effectués à partir des eaux de rinçage pour la recherche des traces spécifiques (la recherche de trace de worst case « IRBESARTAN PA ») par HPLC.

##### ➤ **Préparation des solutions :**

##### - **Solution standard**

Dans une fiole jaugée de 100 mL, peser 30 mg de l'irbesartan, Dissoudre dans un volume suffisant du diluant (phase mobile), mettre à l'ultrason pour une dissolution totale puis compléter au trait de jauge avec le même diluant.

### - Solutions standards d'étalonnage 100%

Dans une fiole jaugée de 100 mL, peser 30 mg de l'irbesartan, Dissoudre dans un volume suffisant du diluant, mettre à l'ultrason pour une dissolution totale puis compléter au trait de jauge avec le même diluant (phase mobile).

Dans une fiole jaugée de 100 mL, introduire 1mL de la solution standard de l'irbesartan, compléter au trait de jauge avec le diluant.

Cette solution utilisée pour la quantification de l'irbesartan dans les eaux de rinçages.

### ➤ Procédure

La méthode consiste à contaminer avec une solution standard la verrerie suivante:

- Fioles : 10, 20, 50, 100 mL.
- Pipette : 1, 2, 5, 10 mL.
- Bécher : 250 mL (utilisé couramment).
- Vial pour HPLC.

La verrerie sera nettoyée suivant les étapes décrites précédemment.

A la fin du nettoyage, rincer avec l'eau purifiée et analyser cette eau purifiée (eau de rinçage) par HPLC.

Initier l'injection quand les conditions des paramètres antérieurs sont conformes.

En injectant :

- L'eau pure comme blanc.
- Solution SE 100% (injecter deux (2) fois).
- (6) fois la solution standard.

Enregistrer les chromatogrammes et donner les aires des pics correspondants.

Calculer la concentration de l'irbesartan en utilisant la formule suivante :

$$C_{ech} = C_{std} \times \frac{A_{ech}}{A_{std}}$$

Avec :

$C_{ech}$  : Concentration de l'irbesartan dans l'eau de rinçage.

$C_{std}$  : Concentration de la solution standard.

$A_{ech}$  : Aire moyen du pic de l'IRBESARTAN dans l'eau de rinçage.

$A_{std}$  : Aire moyen du pic de l'IRBESARTAN dans la solution standard.

**Norme** : Concentration échantillon < à la limite inférieure de quantification (1 µg/mL).



---

## **RÉSULTATS ET DISCUSSION**

---

## 1 Choix du worst case

La base de données et la cotation des critères pour le choix du pire cas sont présentées dans les tableaux XIV et XV.

Tableau XIV : Matrice pour le choix de produits pire cas – base de données.

produits	Principes actifs	Solubilité (eau)	Nettoyabilité	Méthode de détection HPLC	Méthode de détection UV-V
COXITA B 100/200 mg	Celecoxib	Pratiquement insoluble	Difficile	HPLC	UV-V
kepaceta m 250/500 mg	Levetiracetam	Très facilement soluble à soluble	Difficile	HPLC	UV-V
DEMEN TIL 5/10 mg	Donepezil Hydrochloride	Pratiquement insoluble	Difficile	HPLC	UV-V
NERVA X 50/150/300 mg	Prégabaline	Soluble à assez soluble	Difficile	HPLC	/
LOTEV AN PLUS 4 sku	Hydrochlorothiazide	Soluble à assez soluble	Facile	HPLC	/
	Amlodipine besylate	Pratiquement insoluble	Facile		
	Valsartan	Peu à très peu soluble	Très difficile		
LOTEV AN 80-5/160-5/160-10 mg	Amlodipine besylate	Pratiquement insoluble	Facile	HPLC	/
	Valsartan	Peu à très peu soluble	Très difficile		
BISOTA B 5/10 MG  Co-Tabuvan	Bisoprolol fumarate	Pratiquement insoluble	Difficile	HPLC	UV-V
	Hydrochlorothiazide	Soluble à assez soluble	Facile	HPLC	UV-V
	Valsartan	Peu à très peu soluble	Très difficile		
TABUV AN 80/160 mg	Valsartan	Peu à très peu soluble	Très difficile	HPLC	UV-V
ARPET AB 10/15 mg	ARIPIRAZOLE	Pratiquement insoluble	Difficile	HPLC	UV-V
SOLIFE TAB 5/10 mg	SOLIFENACIN SUCCINATE	Soluble à assez soluble	Facile	HPLC	UV-V
IBINOR 10	ESCITALOPRAM OXALATE	Pratiquement insoluble	Facile	HPLC	UV-V
NORMA TEC 20/40	olmesartan medoxomil	Pratiquement insoluble	Très difficile	HPLC	/

## Résultats et discussion

MG					
LORVA ST 10/20/40/ 80 MG	Atorvastatine Calcium	Pratiquement insoluble	Facile	HPLC	UV-V
OMIZ plus	Omeprazole	Peu à très peu soluble	Difficile	HPLC	UV-V
	BICARBONATE DE SODIUM	Soluble à assez soluble	facile		
ZOLIX 5 mg	Levocetirizine Dihydrochloride	Pratiquement insoluble	Difficile	HPLC	UV-V
TOPRA ZOLE 20/40 mg	Pantoprazole Sodium	Peu à très peu soluble	Difficile	HPLC	UV-V
Neurople x 300/400 MG	gabapentin	Soluble à assez soluble	Difficile	HPLC	/
Vascovel	Irbesartan	Pratiquement insoluble	Très difficile	HPLC	/
	Amlodipine besylate	Pratiquement insoluble	Facile		
Sevitab 20-5/ 40- 5/40-10 mg	olmesartan medoxomil	Pratiquement insoluble	Très difficile	HPLC	/
	Amlodipine besylate	Pratiquement insoluble	Facile		
Tablafil 5/20 MG	Tadalafil	Peu à très peu soluble	Facile	HPLC	/
Normate c plus 20- 12.5/4- 12.5/4/25 mg	Olmesartan medoxomil	Pratiquement insoluble	Très difficile	HPLC	/
	Hydrochlorothiazide	Soluble à assez soluble	Facile		
Divido 75MG	Diclofénac de sodium PELLETS	Pratiquement insoluble	Difficile	/	UV-V
ROSUT AB 10/20 mg	Rosuvastatin Calcium	Pratiquement insoluble	Facile	/	UV-V
Efirap 50 mg	Diclofénac de potassium	Pratiquement insoluble	Difficile	/	UV-V
Endolet	Cinacalcet hydrochloride	Pratiquement insoluble	Facile	/	UV-V

Tableau XV : Matrice pour le choix de produit pire cas - Cotation des critères.

produits	Principes actifs	Solubilité	Nettoyabilité	Méthode de détection	Score
COXITAB 100/200 mg	Celecoxib	4	3	4	<b>48</b>
kepacetam 250/500 mg	Levetiracetam	1	3	4	<b>12</b>
DEMENTIL 5/10 mg	Donepezil Hydrochloride	4	3	4	<b>48</b>
NERVAX 50/150/300 mg	Prégabalin	2	3	4	<b>24</b>

## Résultats et discussion

LOTEVAN PLUS 4 sku	Hydrochlorothiazide	2	4	4	<b>16</b>
	Amlodipine besylate	4		4	<b>32</b>
	Valsartan	3		4	<b>48</b>
LOTEVAN 80-5/160-5/160-10 mg	Amlodipine besylate	4	4	4	<b>32</b>
	Valsartan	3		4	<b>48</b>
BISOTAB 5/10 MG Co-Tabuvan	bisoprolol fumarate	4	4	4	<b>48</b>
	Hydrochlorothiazide	2		4	<b>16</b>
	Valsartan	3		4	<b>48</b>
TABUVAN 80/160 mg	Valsartan	3	4	4	<b>48</b>
ARPETAB 10/15 mg	ARIPIRAZOLE	4	3	4	<b>48</b>
SOLIFETAB 5/10 mg	SOLIFENACIN SUCCINATE	2	2	4	<b>16</b>
IBINOR 10	ESCITALOPRAM OXALATE	4	2	4	<b>32</b>
NORMATEC 20/40 MG	Olmesartan medoxomil	4	4	4	<b>64</b>
LORVAST 10/20/40/80 MG	Atorvastatine Calcium	4	2	4	<b>32</b>
OMIZ plus	Omeprazole	3	3	4	<b>36</b>
	BICARBONATE DE SODIUM	2		4	<b>16</b>
ZOLIX 5 mg	Levocetirizine Dihydrochloride	4	3	4	<b>48</b>
TOPRAZOLE 20/40 mg	Pantoprazole Sodium	3	3	4	<b>36</b>
Neuroplex 300/400MG	gabapentin	2	3	4	<b>24</b>
Vascovel	Irbesartan	4	4	4	<b>64</b>
	Amlodipine besylate	4		4	<b>32</b>
Sevitab 20-5/40-5/40-10 mg	olmesartan medoxomil	4	4	4	<b>64</b>
	Amlodipine besylate	4		4	<b>32</b>
Tablafil 5/20 MG	Tadalafil	3	2	4	<b>24</b>
Normatec plus 20-12.5/4-12.5/4/25 mg	Olmesartan medoxomil	4	4	4	<b>64</b>
	Hydrochlorothiazide	2		4	<b>16</b>
Divido 75MG	Diclofénac de sodium PELLETS	4	3	3	<b>36</b>
ROSUTAB 10/20 mg	Rosuvastatin Calcium	4	2	3	<b>24</b>
Efirap 50 mg	Diclofénac de potassium	4	3	3	<b>36</b>
Endolet	Cinacalcet hydrochloride	4	2	3	<b>24</b>

### Discussion :

Les résultats obtenus donnent pour l'irbesartan le score (produit des coefficients) le plus élevé (valeur = 64). **L'irbesartan** matière première est choisie comme produit pire cas pour la validation du nettoyage de la verrerie.

## 2 Résultats de la validation analytique du dosage de l'irbesartan à l'état de traces

### 2.1 Données brutes

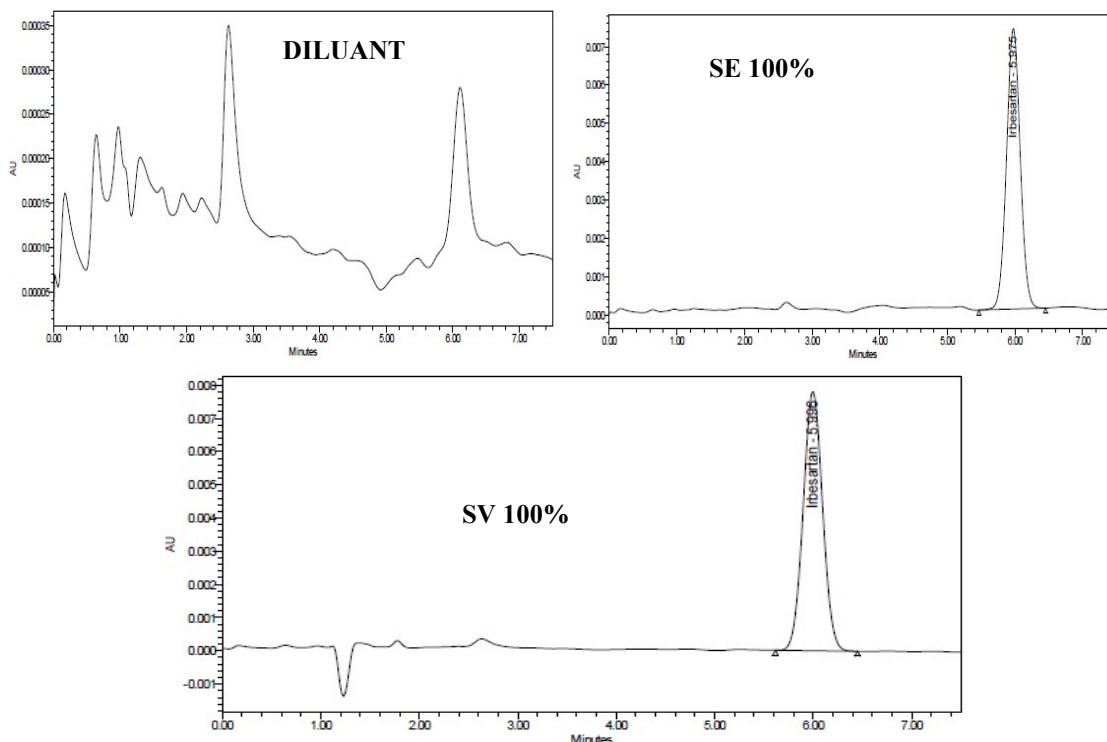
Les données brutes obtenues pour les standards d'étalonnage et de validation sont mentionnées dans les deux tableaux ci-dessous :

Tableau XVI : Données brutes des standards d'étalonnage et de validation.

<b>Données brutes de validation analytique : protocole V2 SFSTP 2006</b>							
<b>Données brutes : Standard d'étalonnage (sans la matrice)</b>							
Niv de Conc i	Répétitions i	Série 1		Série 2		Série 3	
		Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan	Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan	Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan
1	1	10,0	33721	10,0	35271	10,0	34030
	2	10,0	35276	10,0	35376	10,2	34494
2	1	20,0	68180	20,0	71238	20,1	70497
	2	20,0	69632	20,2	72029	20,0	69299
3	1	30,0	103469	30,0	104073	30,2	105471
	2	30,0	105573	30,2	105877	30,1	104518
4	1	40,0	140774	40,0	139480	40,0	144375
	2	40,0	141404	40,0	140092	40,0	145526
5	1	50,0	177764	50,0	174889	50,1	175674
	2	50,0	179855	50,1	175939	50,2	176211
Pente		3608,05		pente		3483,452738	
Ordonnée à l'origine		-2676,7		Ord. origine		748,6452295	
Ord. origine				Ord. origine		-1769,188646	
<b>Données brutes : Standard de validation (dans la matrice)</b>							
Niv de Conc i	Répétitions i	Série 1		Série 2		Série 3	
		Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan	Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan	Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan
1	1	10,0	33665	10,0	36440	10,2	35484
	2	10,0	33718	10,0	36863	10,2	35692
	3	10,0	34694	10,0	37019	10,2	35907
2	1	20,0	72329	20,0	70278	20,1	69497
	2	20,0	73576	20,0	70338	20,1	70776
	3	20,0	74041	20,2	72329	20,1	71782
3	1	30,0	103960	30,2	103271	30,2	105299
	2	30,0	104079	30,2	105561	30,2	106381
	3	30,0	104702	30,2	105566	30,2	106958
4	1	40,0	140068	40,2	144486	40,0	142722
	2	40,0	141232	40,1	145197	40,0	140829
	3	40,0	143201	40,2	145980	40,0	142722
5	1	50,0	177376	40,9	168312	50,2	176027
	2	50,0	178816	40,9	168707	50,2	177156
	3	50,0	178967	40,9	171406	50,2	176027

- **Spécificité**

L'évaluation de la spécificité est faite par la comparaison du chromatogramme d'un SE et un SV d'un même niveau de concentration (niveau 100%) ainsi que celui de la solution diluant sont présentés dans la figure 07.



**Figure 05 : Chromatogrammes du paramètre spécificité.**

### Discussion

- Sur les chromatogrammes obtenus à partir des SE et SV 100%, présence d'un pic de l'irbesartan à un temps de rétention de 7,5 mn.
- Sur le chromatogramme obtenu à partir de diluant, absence du pic de l'irbesartan à un temps de rétention de 7,5 mn. Ce qui témoigne de l'absence d'interférence du diluant dans le dosage du l'irbesartan par HPLC.

La méthode est jugée spécifique.

- **Fonction de réponse**

La relation existante entre la réponse de l'instrument (signal qui est l'aire du pic) et la concentration du principe actif introduite dans la solution, obtenue avec les trois (03) séries des SE, est représentée pour trois modèles mathématiques testés comme suit :

❖ Modèle:  $y = ax + b$

Tableau XVII : Résultats obtenus pour la fonction  $y = ax + b$ .

<b>Données brutes de validation analytique : protocol V2 SFSTP 2006</b>							
<b>Données brutes : Standard d'étalonnage (sans la matrice)</b>							
Niv de Conc j	Répétitions i	Série 1		Série 2		Série 3	
		Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan	Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan	Quantités introduites en mg	aire du pic d'Irbesartan
1	1	10,0	33721	10,0	35271	10,0	34030
	2	10,0	35276	10,0	35376	10,2	34494
2	1	20,0	68180	20,0	71238	20,1	70497
	2	20,0	69632	20,2	72029	20,0	69299
3	1	30,0	103469	30,0	104073	30,2	105471
	2	30,0	105573	30,2	105877	30,1	104518
4	1	40,0	140774	40,0	139480	40,0	144375
	2	40,0	141404	40,0	140092	40,0	145526
5	1	50,0	177764	50,0	174889	50,1	175674
	2	50,0	179855	50,1	175939	50,2	176211
<b>Pente</b>		<b>3608,05</b>	<b>3608,05</b>	<b>pende</b>	<b>3483,452738</b>	<b>pende</b>	<b>3581,877323</b>
<b>Ordonnée à l'origine</b>		<b>-2676,7</b>	<b>-2676,7</b>	<b>Ord. origine</b>	<b>748,6452295</b>	<b>Ord. origine</b>	<b>-1769,188646</b>

## Résultats et discussion

A partir des données de ce tableau, on trace les courbes d'étalonnage des trois séries de SE :

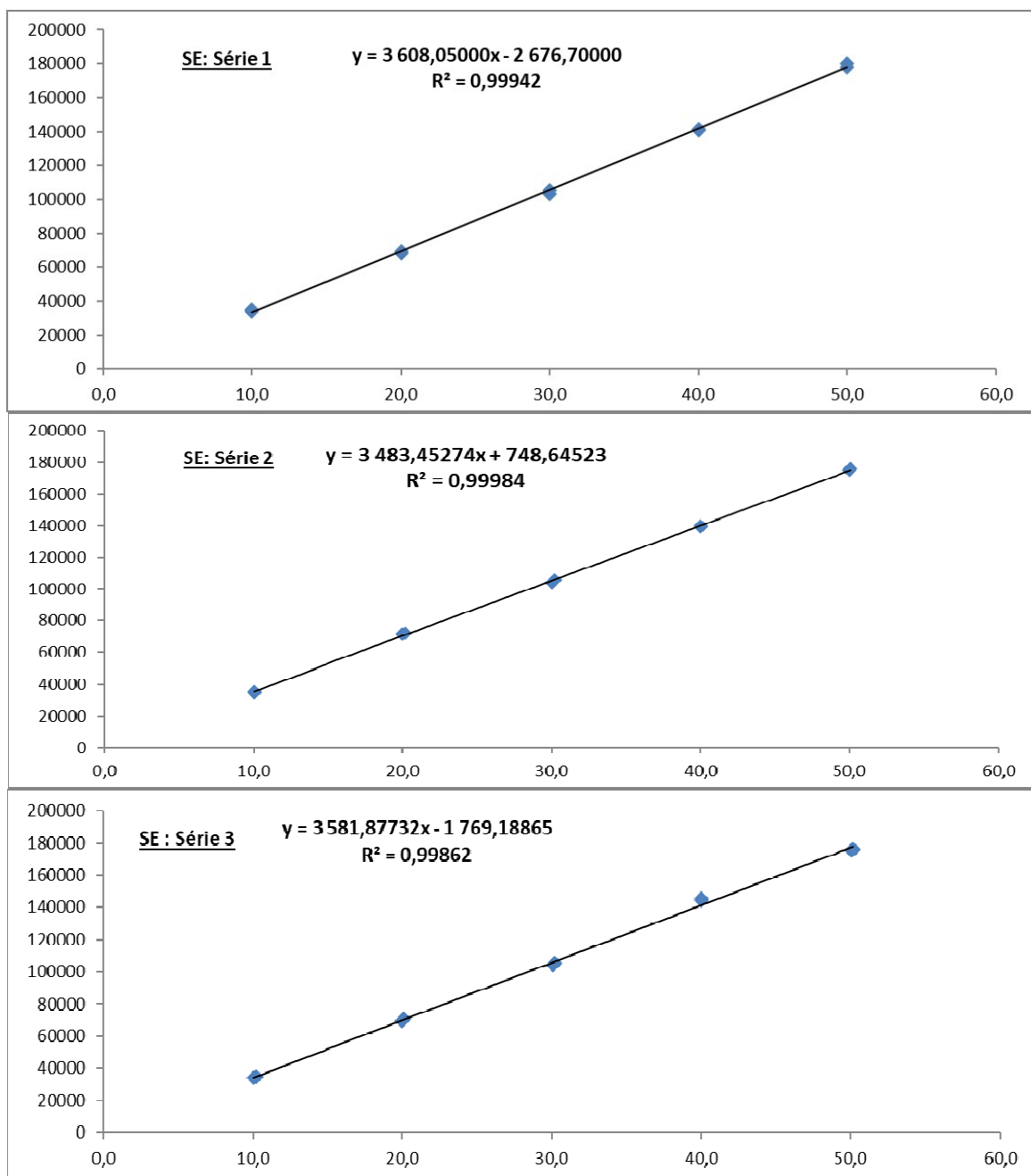


Figure 06 : Courbes d'étalonnages obtenues avec la fonction  $y = ax + b$

### Critères de choix de la fonction de réponse

Pour le choix de la fonction de réponse qui est capable de prédire une proportion suffisante des futurs résultats qui se situeront à l'intérieur de la zone d'acceptabilité [ $1\mu\text{g}$ ,  $5\mu\text{g}$ ], nous pouvons procéder par deux méthodes, soit :

- Par le calcul des indices : d'intervalle de dosage, indice de justesse, indice de fidélité et indice d'exactitude ;
- Par comparaison des profils d'exactitude.

Dans le présent travail nous avons généré pour chaque fonction un profil d'exactitude présenté dans les figures suivantes :

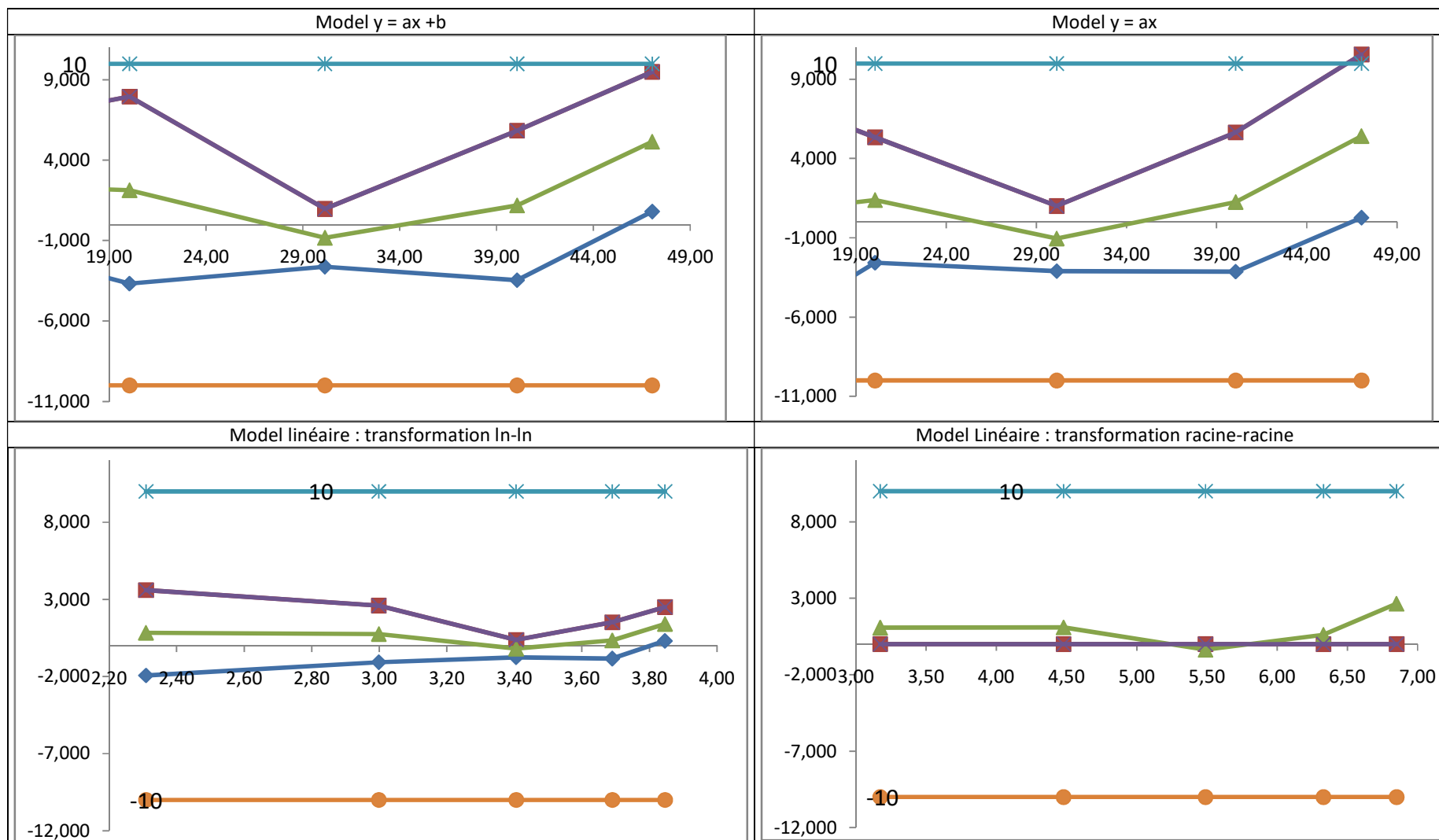


Figure 07 : Courbes des profils d'exactitude obtenues avec les différentes fonctions.

## Résultats et discussion

### Discussion

Le choix du profil d'exactitude est basé sur l'objectif de trouver des biais plus proches de zéro, avec un intervalle de tolérance le plus étroit et situé à l'intérieur des limites d'acceptabilité, pour avoir une méthode valide dans l'intervalle de concentration étudiée.

Après avoir examiné soigneusement les profils d'exactitude des différents modèles et en fonction de ces motifs de choix, nous avons sélectionné :

- Le modèle régression linéaire  $y = ax + b$

Vu sa simplicité et sa facilité de mise en œuvre dans l'analyse de routine le modèle régression linéaire est le plus adéquat.

- **Alignement des observations v**

Lorsque les quantités introduites ne sont pas identiques, l'alignement des réponses sur la moyenne des concentrations introduites est exigé et cela pour chaque niveau de concentration.

L'alignement des réponses obtenues avec les échantillons de validation est résumé dans le tableau suivant :

Tableau XVIII : Alignement des réponses observées avec les trois séries des SV.

Niv de Conc j	Répétitions i	Série 1		Série 2		Série 3		Moy des $x_{i,j,k}$			Moy $x_j$ introduite
		Quantités (Concentrations) introduites	signal (aire du pic, absorbance)	Quantités (Concentrations) introduites	signal (aire du pic, absorbance)	Quantités (Concentrations) introduites	signal (aire du pic, absorbance)	Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	10,00	33665,00	10,00	36440,00	10,20	35484,00	10,00	10,00	10,20	10,07
	2	10,00	33718,00	10,00	36863,00	10,20	35692,00				
	3	10,00	34694,00	10,00	37019,00	10,20	35907,00				
2	1	20,00	72329,00	20,00	70278,00	20,10	69497,00	20,00	20,07	20,10	20,06
	2	20,00	73576,00	20,00	70338,00	20,10	70776,00				
	3	20,00	74041,00	20,20	72329,00	20,10	71782,00				
3	1	30,00	103960,00	30,20	103271,00	30,20	105299,00	30,00	30,20	30,20	30,13
	2	30,00	104079,00	30,20	105561,00	30,20	106381,00				
	3	30,00	104702,00	30,20	105566,00	30,20	106958,00				
4	1	40,00	140068,00	40,20	144486,00	40,00	142722,00	40,00	40,17	40,00	40,06
	2	40,00	141232,00	40,10	145197,00	40,00	140829,00				
	3	40,00	143201,00	40,20	145980,00	40,00	142722,00				
5	1	50,00	177376,00	40,90	168312,00	50,20	176027,00	50,00	40,90	50,20	47,03
	2	50,00	178816,00	40,90	168707,00	50,20	177156,00				
	3	50,00	178967,00	40,90	171406,00	50,20	176027,00				
		Pentes des droites d'étalonnage		Ordoonnées des droites d'étalonnage							
		Série 1 : pente =		3608,050	Série 1 : ord. orig =		-2676,700				
		Série 2 : pente =		3483,453	Série 2 : ord. orig =		748,645				
		Série 3 : pente =		3581,877	Série 3 : ord. orig =		-1769,189				

## Résultats et discussion

- **Prédictions inverses**

Avant d'effectuer les prédictions inverses, c'est-à-dire calculer des concentrations en retour avec la fonction de réponse, il est préférable de s'assurer qu'au sein d'un niveau de concentration, les concentrations sont toutes identiques.

Les prises d'essai prédites avec la fonction de réponse choisie sont présentées dans le tableau suivant :  $y = ax + b$

Tableau XIX : Prédictions inverses obtenues avec les SV.

Alignement des réponses			Prédictions inverses $X_{ijk, calc}$			Moy des prédictions inverses			$\mu_{j, calc=1/n}$ $\Sigma x_{ijk, cal}$
Série1	Série2	Série3	Série1	Série2	Série3	Série 1	Série 2	Série 3	
33665,00	36440,00	35484,00	10,07	10,25	10,40	10,17	10,34	10,46	<b>10,324</b>
33718,00	36863,00	35692,00	10,09	10,37	10,46				
34694,00	37019,00	35907,00	10,36	10,41	10,52				
72329,00	70510,23	69497,00	20,79	20,03	19,90	21,06	20,16	20,23	<b>20,484</b>
73576,00	70570,23	70776,00	21,13	20,04	20,25				
74041,00	71864,54	71782,00	21,26	20,42	20,53				
103960,00	103271,00	105299,00	29,56	29,43	29,89	29,63	29,87	30,15	<b>29,884</b>
104079,00	105561,00	106381,00	29,59	30,09	30,19				
104702,00	105566,00	106958,00	29,76	30,09	30,35				
140068,00	144369,88	142722,00	39,56	41,23	40,34	39,96	41,47	40,16	<b>40,532</b>
141232,00	145429,23	140829,00	39,89	41,53	39,81				
143201,00	145863,88	142722,00	40,43	41,66	40,34				
177376,00	168312,00	176027,00	49,90	48,10	49,64	50,18	48,44	49,74	<b>49,454</b>
178816,00	168707,00	177156,00	50,30	48,22	49,95				
178967,00	171406,00	176027,00	50,34	48,99	49,64				

- **Justesse et exactitude**

Le tableau ci-dessous présente l'exactitude relative et la justesse qui est exprimée en termes de biais relatif (%) ou de taux de recouvrement (%) pour chaque niveau de concentration des standards de validation

## Résultats et discussion

Tableau XX : Justesse et exactitude calculées pour chaque niveau de concentration des standards de validation.

Niv de Conc j	Répétitions i	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relatif ijk			Exactitude relatif ij
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	0,258	2,561	102,561	0,724	2,460	1,965	1,716
	2				0,871	3,674	2,535	2,360
	3				3,576	4,122	3,123	3,607
2	1	0,428	2,136	102,136	3,942	0,133	-1,013	1,021
	2				5,670	0,219	0,763	2,217
	3				6,315	1,066	2,160	3,180
3	1	-0,250	-0,828	99,172	-1,483	-2,546	-1,021	-1,683
	2				-1,373	-0,369	-0,021	-0,587
	3				-0,797	-0,364	0,513	-0,216
4	1	0,477	1,190	101,190	-1,093	2,561	0,849	0,772
	2				-0,286	3,575	-0,472	0,939
	3				1,078	3,628	0,849	1,852
5	1	2,421	5,147	105,147	-0,194	17,610	-1,120	5,432
	2				0,604	17,888	-0,492	6,000
	3				0,688	19,782	-1,120	6,450

### Discussion

L'accord entre la valeur de la concentration moyenne prédite obtenue à partir des trois séries de validation et la valeur de la moyenne des concentrations théoriques considérée comme étant la valeur de référence est assez étroit pour tous les niveaux en tenant compte que les biais relatifs de ces derniers sont inférieurs à 3%, exception faite pour le premier niveau qui a un biais relatif de 5,147%.

Donc la méthode est juste.

- **Fidélité**

La fidélité de notre méthode est évaluée dans de conditions de répétabilité et de fidélité intermédiaire. Elle est calculée pour chaque niveau de concentration, exprimée en écart type et en termes de coefficients de variations.

Les calculs des MSE<sub>j</sub>, MSM<sub>j</sub>, des variances intra-série et inter-série et les CV de répétabilité et de fidélité-intermédiaire sont présentés dans les deux tableaux suivants :

## Résultats et discussion

Tableau XXI : Calcul des MSE<sub>j</sub>, MSM<sub>j</sub>.

Calcul du MSM <sub>j</sub>						Calcul du MSE <sub>j</sub>							
(X <sub>i,j</sub> - U <sub>j</sub> )			(X <sub>i,j</sub> - U <sub>j</sub> ) <sup>2</sup>			MSM <sub>j</sub> = 3/2Σ(X <sub>i,j</sub> - U <sub>j</sub> ) <sup>2</sup>	(x <sub>i,j,k</sub> - moy x <sub>i,j</sub> )			(x <sub>i,j,k</sub> - moy x <sub>i,j</sub> ) <sup>2</sup>			MSE <sub>j</sub> = 1/6Σ(x <sub>i,j,k</sub> - moy x <sub>i,j</sub> ) <sup>2</sup>
Série 1	Série 2	Série 3	Série 1	Série 2	Série 3		Série 1	Série 2	Série 3	Série 1	Série 2	Série 3	
-0,15	0,02	0,13	0,02	0,00	0,02	<b>0,062</b>	-0,10	-0,10	-0,06	0,01	0,01	0,00	<b>0,012</b>
							-0,09	0,03	0,00	0,01	0,00	0,00	
							0,19	0,07	0,06	0,03	0,00	0,00	
0,58	-0,32	-0,26	0,33	0,10	0,07	<b>0,755</b>	-0,27	-0,14	-0,33	0,07	0,02	0,11	<b>0,070</b>
							0,07	-0,12	0,03	0,01	0,01	0,00	
							0,20	0,25	0,31	0,04	0,06	0,09	
-0,25	-0,01	0,26	0,06	0,00	0,07	<b>0,197</b>	-0,08	-0,44	-0,26	0,01	0,19	0,07	<b>0,071</b>
							-0,05	0,22	0,05	0,00	0,05	0,00	
							0,13	0,22	0,21	0,02	0,05	0,04	
-0,57	0,94	-0,37	0,33	0,89	0,14	<b>2,026</b>	-0,40	-0,24	0,18	0,16	0,06	0,03	<b>0,111</b>
							-0,07	0,06	-0,35	0,01	0,00	0,12	
							0,47	0,18	0,18	0,22	0,03	0,03	
0,73	-1,02	0,29	0,53	1,04	0,08	<b>2,475</b>	-0,28	-0,33	-0,11	0,08	0,11	0,01	<b>0,109</b>
							0,12	-0,22	0,21	0,01	0,05	0,04	
							0,16	0,55	-0,11	0,03	0,31	0,01	

Tableau XXII : Calcul des CV de répétabilité et de fidélité-intermédiaire.

Niv de Conte j	Répétition s <sub>1</sub>	MSM	MSE	MSE <sub>2</sub>	(MSM - MSE)/3	σ <sup>2</sup> <sub>w<sub>j</sub></sub>	σ <sup>2</sup> <sub>B<sub>j</sub></sub>	Ecat type de répétabilité σ <sub>w<sub>j</sub></sub>	Ecat type intersérie σ <sub>B<sub>j</sub></sub>	Ecat type de Fidélité intermédiaire Racine(σ <sup>2</sup> <sub>w<sub>j</sub></sub> + σ <sup>2</sup> <sub>B<sub>j</sub></sub> )	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,062	0,012	0,025	0,017	0,012	0,017	0,111	0,129	0,170	1,098	1,690
	2											
	3											
2	1	0,755	0,070	0,241	0,228	0,070	0,228	0,265	0,478	0,546	1,321	2,724
	2											
	3											
3	1	0,197	0,071	0,102	0,042	0,071	0,042	0,266	0,205	0,336	0,882	1,114
	2											
	3											
4	1	2,026	0,111	0,590	0,638	0,111	0,638	0,334	0,799	0,866	0,834	2,161
	2											
	3											
5	1	2,475	0,109	0,700	0,789	0,109	0,789	0,330	0,888	0,947	0,701	2,014
	2											
	3											
										<b>Normes</b>	<b>&lt; 2%</b>	<b>&lt; 5%</b>

### Discussion

La dispersion des prédictions inverses des concentrations des trois séries de validation est assez étroite pour tous les niveaux de concentration, du fait que les coefficients de variance de la répétabilité de tous les niveaux est inférieur à 2 % et de la fidélité intermédiaire est inférieur à 5 %.

Compte tenu des valeurs obtenues des CV, la fidélité intra-série de la méthode est jugée satisfaisante, la méthode est donc fidèle.

Cependant ces estimations de la fidélité et de la justesse ne sont pas une fin en soi, ils sont une étape intermédiaire obligatoire pour pouvoir évaluer si la procédure analytique va pouvoir ou non quantifier avec une exactitude suffisante chacune des quantités inconnues, en d'autres termes, elles ne renseignent pas sur la qualité des résultats et ne permettent pas de prendre une décision sur la validité de la méthode.

## Résultats et discussion

- **Erreur totale et intervalle de tolérance**

L'erreur totale et l'erreur totale relative ainsi que les limites de tolérance sont calculées pour chaque niveau de concentration, les résultats obtenus sont dans le tableau ci-dessous :

Tableau XXIII : Calcul de l'erreur totale et des intervalles de tolérances inférieurs et supérieurs.

Niv de Conc j	Conc	Répétition s i	R <sub>i</sub>	B <sub>j</sub>	V	Q <sub>t</sub>	Erreur totale absolue	Erreur totale relative	Limite de tolérance inférieure	Limite de tolérance supérieure
1	10,07	1	1,368	0,681	3,686	1,638	0,428	4,251	<b>-0,521</b>	<b>5,642</b>
		2								
		3								
2	20,06	1	3,249	0,629	2,782	1,886	0,975	4,859	<b>-3,677</b>	<b>7,949</b>
		2								
		3								
3	30,13	1	0,597	0,757	5,033	1,476	0,585	1,942	<b>-2,625</b>	<b>0,969</b>
		2								
		3								
4	40,06	1	5,724	0,608	2,455	1,886	1,343	3,352	<b>-3,457</b>	<b>5,838</b>
		2								
		3								
5	47,03	1	7,259	0,602	2,361	1,886	3,368	7,161	<b>0,806</b>	<b>9,488</b>
		2								
		3								

### Discussion

Selon les résultats de l'erreur totale montrés dans le tableau XXIII, on juge que tous les niveaux de concentration sont inclus dans l'intervalle d'acceptabilité.

- **Profil d'exactitude**

Parmi les différents modèles, nous avons opté pour le modèle de régression linéaire pour la validation du nettoyage de l'irbesartan qui est illustré dans le profil d'exactitude indiqué dans la figure suivante :

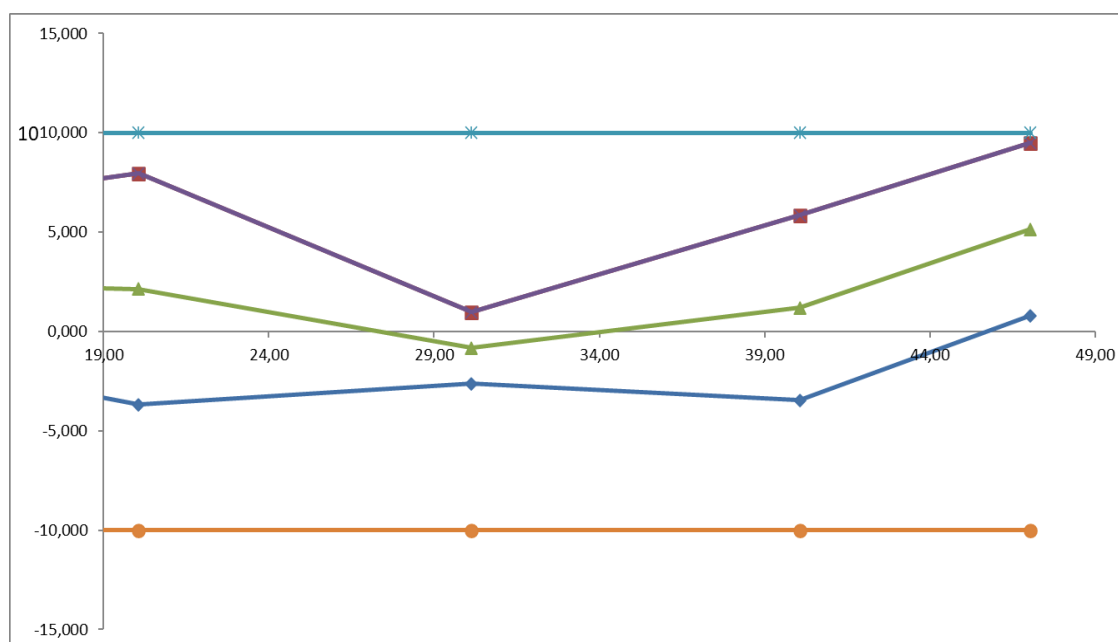


Figure 08 : Tracé du profil d'exactitude pour la fonction  $y = ax + b$ .

### Discussion

Le profil d'exactitude de la figure 08 montre que la méthode peut être validée sur la totalité du domaine de concentrations 33.33% à 166.66% pour une limite d'acceptation de  $\pm 10\%$ .

Cela signifie que la méthode est capable de produire une proportion de 90% des résultats acceptables et seulement 10% des futures mesures d'échantillons inconnus peuvent avoir des résultats non fiables.

- **Linéarité**

Un modèle de régression linéaire a été ajusté sur les concentrations calculées en fonction des concentrations introduites dans le but d'obtenir l'équation suivante :

$$Y = 0.98x + 0.597$$

## Résultats et discussion

Tableau XXIV: Masses prédites en fonction des masses introduites.

Niveaux	Séries	Répétitions	Quantités ou concentrations introduites	Quantités ou concentrations prédite	
1	1	1	10,00	10,07	
		2	10,00	10,09	
		3	10,00	10,36	
	2	1	1	10,00	10,25
			2	10,00	10,37
			3	10,00	10,41
	3	1	1	10,20	10,40
			2	10,20	10,46
			3	10,20	10,52
2	1	1	20,00	20,79	
		2	20,00	21,13	
		3	20,00	21,26	
	2	1	1	20,00	20,03
			2	20,00	20,04
			3	20,20	20,42
	3	1	1	20,10	19,90
			2	20,10	20,25
			3	20,10	20,53
3	1	1	30,00	29,56	
		2	30,00	29,59	
		3	30,00	29,76	
	2	1	1	30,20	29,43
			2	30,20	30,09
			3	30,20	30,09
	3	1	1	30,20	29,89
			2	30,20	30,19
			3	30,20	30,35
4	1	1	40,00	39,56	
		2	40,00	39,89	
		3	40,00	40,43	
	2	1	1	40,20	41,23
			2	40,10	41,53
			3	40,20	41,66
	3	1	1	40,00	40,34
			2	40,00	39,81
			3	40,00	40,34
5	1	1	50,00	49,90	
		2	50,00	50,30	
		3	50,00	50,34	
	2	1	1	50,20	48,10
			2	50,20	48,22
			3	50,20	48,99
	3	1	1	50,20	49,64
			2	50,20	49,95
			3	50,20	49,64

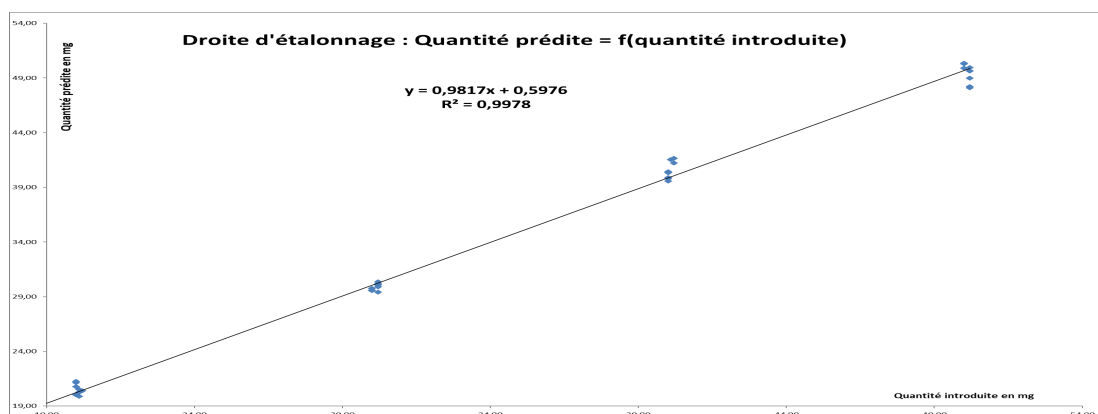


Figure 09 : Courbe de linéarité obtenue avec la fonction  $y = ax + b$ .

### Discussion

La méthode est linéaire dans l'intervalle de concentration de [1–5] µg/ml avec une droite :

$$y = 0.9817 x + 0.5976$$

y= Concentration prédite.

x= Concentration introduite.

Et une régression satisfaisante (coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9978$ ).

- Une pente significativement différente de zéro donc la régression est significative entre la variable expliquée (concentration prédite) et variable explicative (concentration introduite). De plus elle est comparable à 1 au risque de 10% ;
- Une ordonnée à l'origine comparable à zéro au risque de 10%.

On conclut que la linéarité de la méthode de dosage est validée.

- **Limites de quantification et intervalle de dosage**

Le profil d'exactitude est contenu dans les limites d'acceptabilité  $\pm 10\%$ , les limites inférieure et supérieure de quantification sont définies comme suit :

- Limite inférieure de quantification = 33.33 % soit une concentration de 1 µg/ml.
- Limite supérieure de quantification = 166.66 % soit une concentration de 5 µg/ml.

Donc la méthode est considérée comme valide.

### 3 Validation du procédé de nettoyage

Les traces de l'irbesartan sont mises en évidence par HPLC.

D'après les résultats trouvés, on constate que les limites de détection et de quantification de la méthode analytique choisie pour la recherche des traces de principe actif est en adéquation avec les critères d'acceptation calculés est  $< 3\mu\text{g/ml}$  donc les résultats sont conformes pour le dosage du principe actif.

Les résultats de HPLC et les concentrations de l'irbesartan calculés dans les eaux de rinçage de nettoyage des différentes verreries sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

## Résultats et discussion

Tableau XXV : Résultats de la recherche de trace de l'irbesartan.

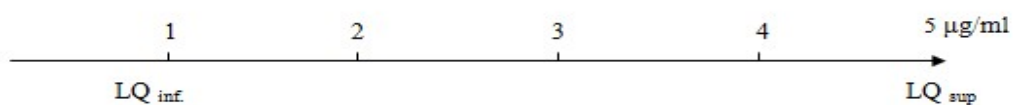
Verreries	1 <sup>ère</sup> série		2 <sup>ème</sup> série		3 <sup>ème</sup> série		Conformité
	Aire de pic (irbesartan)	Concentration d'irbesartan (µg/ml)	Aire de pic (irbesartan)	Concentration d'irbesartan (µg/ml)	Aire de pic (irbesartan)	Concentration d'irbesartan (µg/ml)	
Pipette 1ml	2828	0.076	2301	0.061	0	0	< 3 µg/ml
Pipette 2ml	1271	0.034	1515	0.04	0	0	< 3 µg/ml
Pipette 5ml	1982	0.053	2786	0.074	2935	0.078	< 3 µg/ml
Pipette 10ml	2540	0.068	1780	0.047	1185	0.031	< 3 µg/ml
Fiole 10ml	2454	0.066	1762	0.047	0	0	< 3 µg/ml
Fiole 20ml	3144	0.084	0	0	0	0	< 3 µg/ml
Fiole 50ml	2159	0.058	0	0	0	0	< 3 µg/ml
Fiole 100ml	2202	0.059	0	0	1482	0.039	< 3 µg/ml
Becher	2416	0.065	1848	0.049	1291	0.034	< 3 µg/ml
Vial	0	0	0	0	2045	0.054	< 3 µg/ml

### Note :

La concentration de l'irbesartan égale à 0, la quantité de l'irbesartan est nulle de faite que l'aire de pic est non détecté.

### Discussion

D'après les résultats :  $C_{ech} < 3\mu\text{g/ml}$  et  $C_{ec} < 1\mu\text{g/ml}$



- Limite inférieure de quantification = 33.33 % soit une concentration de 1 µg/ml.
- Limite supérieure de quantification = 166.66 % soit une concentration de 5 µg/ml.

Les résultats sont conformes, donc le nettoyage est validé.

### Synthèse des résultats

La méthode de dosage d'irbesartan à l'état de traces est valide dans l'intervalle de dosage [1µg/ml ; 5µg/ml] au risque de 10%.

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que le nettoyage est valide.



---

## CONCLUSION

## Conclusion

---

La validation du nettoyage consiste à vérifier si les procédés de nettoyage permettent d'éliminer efficacement les résidus de contaminant, ce dernier peut être un principe actif, un excipient ou un détergent. Le cas de la validation du nettoyage de la verrerie dans le laboratoire de contrôle qualité de TABUK Pharmaceuticals, illustre la mise en place de cette méthodologie de validation.

Le but de notre étude a été de valider un nettoyage de verrerie de laboratoire par le dosage de l'irbesartan à l'état de traces dans les eaux de rinçage par HPLC, la méthode a été préalablement validée en utilisant le profil d'exactitude et l'intervalle de tolérance comme outils de décision de la validation et de diagnostic. Le choix de l'irbesartan comme étant traceur de la validation a été fait sur la base des critères de sélection physicochimique et ceux liés à la pertinence de la méthode analytique.

En premier lieu, nous avons établi une matrice regroupant les caractéristiques retenus pour l'ensemble des principes actifs constituant la gamme de production de l'entreprise TABUK Pharmaceuticals, comme énoncé précédemment, le traceur choisi est l'irbesartan.

En deuxième lieu nous avons effectué une mise au point et une validation complexe du dosage de l'irbesartan à l'état de trace dans les eaux de rinçage. Conformément au protocole de validation de la SFSTP 2006, la méthode est valide dans un intervalle de concentration de [1-5] µg/ml pour un intervalle d'acceptation de  $\pm 10\%$  et un  $\beta$  expectant de 90%.

En fin, nous avons appliqué la méthode validée au dosage des traces de l'irbesartan dans les eaux de rinçage final de la verrerie de laboratoire. Un plan d'échantillonnage a été préalablement établi, basé sur la criticité du nettoyage et couvrant l'ensemble de la verrerie du laboratoire de contrôle qualité.

Les résultats obtenus ont répondu à toutes les exigences et performances spécifiques élaborées dans cette approche harmonisée ; ce qui atteste de la validité du procédé de nettoyage de la verrerie du laboratoire de contrôle qualité de l'entreprise pharmaceutique TABUK Pharmaceuticals. Nos objectifs principaux et secondaires sont atteints.



---

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

---

- [1] : Laftine L. Validation de nettoyage des équipements de production dans l'industrie pharmaceutique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Rabat, université Mohammed V 2010 ; p 20,26, 51,71.
- [2] : Dandjinou MI. Validation de nettoyage : enjeux et mise en place. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lille 2 Année Universitaire, France. 2011/2012 ; p 19.
- [3] : Bailly J. Stratégie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. France, université Claude Bernard – Lyon I Faculté de pharmacie. 19 Mai 2004 ; p 28, 29. 47,48, 56, 64,66.
- [4] : Buisine L. La qualité et son management en industrie pharmaceutique : s'imposer un cadre restrictif ou plutôt s'ouvrir à de nouveaux horizons. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lorraine 2016. Le 28 Septembre 2016 ; p 15.
- [5] : Nasser et Tijane M. Les 7 outils de base du système de management de la qualité. Revue Du contrôle de la comptabilité et de l'audit « volume 4 : numéro 2 »; p : 264-280.
- [6] : Bonne pratique de laboratoire. Lncpp /Cecomed. 2010
- [7] : ISO 9000:2015 - Systèmes de management de la qualité « Principes essentiels et vocabulaire », ISO. [En ligne]. Consulté le 15/10/2021.Disponible sur:  
[https://www.iso.org/iso/fr/catalogue\\_detail?csnumber=45481](https://www.iso.org/iso/fr/catalogue_detail?csnumber=45481). [Consulté le: 27- août2016]. [ISO, 2005].
- [8] : Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication. Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des Produits de santé. 26 nov.2020; p19, 21,22, 24, 105.
- [9] : Trehel C. Gestion du risque de contamination croisée en industrie pharmaceutique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. U.F.R des sciences pharmaceutiques – Université de Bordeaux ; France. 06 Mars 2015 ; p 11-15.
- [10] : Baricault A. Validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : cas pratique d'un projet de changement d'agent de nettoyage. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Bordeaux 2 .U.F.R. des sciences pharmaceutiques. Le 28 novembre 2014 ; p 18, 19,21-23,26.
- [11] : Mamou M. Stratégies de validation de nettoyage en industrie pharmaceutique: nouvelles recommandations et applications aux équipements de fabrication dans un site multi produits. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Mouloud MAMMERI de Tizi Ouzou.08 juillet 2018 ; p 7-9, 13-20, 22, 24, 26,40.

## Références bibliographiques

---

- [12] : Bolzan C. La validation de nettoyage en industrie pharmaceutique : validation des prés requis, principe et application au cas particulier d'une centrale de pesées. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré - NANCY 1 ; France. 09 Déc. 2008 ; p 9, 29,30, 37,46, 47, 53, 71,73-74,76, 77.
- [13] : Liagre L. Validation du nettoyage des équipements de production pharmaceutique : Recommandations de la nouvelle annexe 15 des BPF. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lille 2. 13 avril 2018 ; p 19, 28,50.
- [14] : Information sur la mesure de volume, <https://pdf.medicaexpo.fr/pdf/brand/informations-mesure-volumes>; p 3, 12.
- [15] : Pelzer Y. Nettoyage et désinfection des équipements de conditionnement: enjeux, problématiques et solutions d'amélioration continue sur un site de fabrication de produits pharmaceutiques et cosmétiques. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier, France. 26 novembre 2018 ; p 19.
- [16]: Traitement de la verrerie de laboratoire:  
[https://www.dutscher.com/data/pdf\\_guides/fr/Traitement\\_verrerie\\_de\\_laboratoire.pdf](https://www.dutscher.com/data/pdf_guides/fr/Traitement_verrerie_de_laboratoire.pdf); p 8, 45, 46 ,49.
- [17] : Harizi R Y. Guellour M. Validation de méthode de nettoyage de la verrerie : Mémoire pour le diplôme de Master en bioindustrie analyse et contrôle. Université des Frères Mentouri Constantine. 2017; p 15,18, 19,28.
- [18]: Utilisation de la pipette et de la pro-pipette :  
<https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-experimentale/techniques-d-analyse/utilisation-de-la-pipette-et-de-la-propipette>.
- [19]: F. Laban, C. Bouloumie, M. Bousquet-Bedu, J. Cavil, A. Dumant, F. Durand *et al*, Choix et qualification des produits détergents et désinfectants, S.T.P Pharma Pratiques 1999, 9 (3) ; p 9 ,22-24,71, 251-257.
- [20] : MOURNA H. Validation de nettoyage des équipements de production des formes pâteuses. Thèse pour le diplôme de doctorat en pharmacie Université MOHAMMED V, Faculté de Médecine et de Pharmacie - RABAT.2010; p 9, 10,21.
- [21]: Types Of Cleaning Detergents disponible sur <https://www.gsa.gov/portal/content/113006>.
- [22] : Fourman G.L, Mullen M.V. Determining cleaning validation acceptance limits pharmaceutical manufacturing operations, Pharm, Tech. April 1993 ; p 21.

## Références bibliographiques

---

- [23] : Demartini A.M. La validation du nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : application à un laveur de verrerie dans un laboratoire de contrôle. Université de Bordeaux U.F.R. des sciences pharmaceutique, 2014 ; p22.
- [24] : Conte L, Validation des procédés de nettoyage : application a un cas concret dans l'industrie pharmaceutique. Thèse de doctorat en pharmacie. 27 juin 2003 ; p 1,23.
- [25] : Sartorius S.A. Contrôle microbiologique des denrées alimentaires, des boissons et des produits pharmaceutiques. France ; p 23.
- [26] : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS).
- [27] : Axe " Génie des Procédés", centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne., Méthode spectrométriques d'analyse et de caractérisation ; p15, 25.
- [28] : Pharmacopée Européenne 8<sup>ème</sup> édition, Monographie 2.2.46. Techniques de séparation chromatographiques ; p 26.
- [29] : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Ligne directrice 15 : qualification et validation .bonnes pratiques de fabrication. Bulletin Officiel.N° 2015/12bis.
- [30] : Boubeker R. Bouaggar kh. Validation de nettoyage d'une centrale de pesée : Cas d'un site multi produits ». Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. Le 19 juillet 2017, p 22.
- [31] : Hubert P, Nguyen-HUU J et al. Validation des procédures analytiques quantitatives: Harmonisation des démarches. STP Pharma Pratiques - volume 13 - N° 3.2003 ; p112, 115-118.
- [32] : Hubert P, Nguyen-HUU J et al. Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches. Partie II : Statistiques. STP Pharma Pratiques - volume 16 - N°
- [33] : MONOGRAPHIE DE PRODUIT. <sup>Pr</sup>Sandoz Irbesartan.Norme de fabricant .Sandoz Canada Inc.145, Jules-Léger .Boucherville, QC,Canada. J4B 7K8.Date de rédaction : 19 février 2018.
- [34] : Le dictionnaire Vidal 2015, 91e Edition. 21, rue Camille-Desmoulins-92789 ISSY-LES-MOULINEAUX Cedex 9 France.
- [35] : ANSM –mis à jour le 04/10/2021 : Base de données publique des médicaments. Disponible sur [https:// médicaments.gouv. Fr](https://medicaments.gouv.fr).
- [36] : Chromatographie liquide haute performance ou H.P.L.C.  
<http://mpdoc.iutlan.univrennes1.fr/CHIMIE/Chimie1/CHROMLIQ.HTM>.
- [37] :U.S. Pharmacopeial convention. Material name : Irbesartann5543 Version # : 02 Révision date : 03-20-2014 Issue date : 01-21-2011).

## Références bibliographiques

---

[38] : Latifa BEN SAAD. Etude de la séparation des fluoroquinolones par HPLC : Application à l'étude de leur dégradation par rayonnement gamma. Thèse présentée pour l'obtention du master en chimie analytique. Université Tunis El Manar. Faculté des sciences de Tunis, 19/12/2013 ; p14, 15,21.

[39] : SELILA Lyliya, GRINE Zineb. Mise au point et validation d'une méthode de dosage de l'irbésartan dans des comprimés de 150 mg par la chromatographie liquide à haute performance. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en Pharmacie. Faculté de médecine, département de pharmacie de Tizi-Ouzou, le 15 juillet 2018.

[40] : Chimie analytique. Analyse chimique en main disponible sur <https://www.chimieanalytique.com>.

[41] : HPLC Principe et appareillage. 2010.Extract of Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine - Académie de Rouen, publié le mercredi 20 janvier 2010. Disponible sur le site : [http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/article\\_PDF/HPLCPrincipe-et-appareillage\\_a9.pdf](http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/article_PDF/HPLCPrincipe-et-appareillage_a9.pdf).

[42] : M.MAMOU. Cours chromatographie liquide à haute performance. Département de Pharmacie de Tizi-Ouzou. Laboratoire de Chimie Analytique.

[43] : <https://LUSTINER.com>.



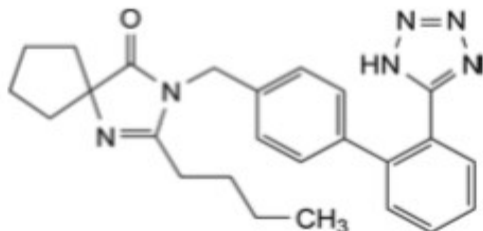
---

## ANNEXES

# Monographie de l'irbesartan

## IRBESARTAN

### Irbesartanum



$C_{25}H_{28}N_6O$  Mr 428,5

### 1. Dénomination chimique

2-Butyl-3-[[2'-(1*H*-tétrazol-5-yl) biphényl-4-yl] méthyl] -1,3-diazaspiro [4.4] non-1-en-4-one.

Teneur : 99,0 pour cent à 101,0 pour cent (substance anhydre).

### 2. Caractères

**Aspect** : poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche.

**Polarité** : Un composé non polaire ayant un coefficient de partition (octanol/eau) de 10.1 à un pH de 7.4 [33].

**Solubilité** : pratiquement insoluble dans l'eau, assez soluble dans le méthanol, peu soluble dans le chlorure de méthylène. L'Irbesartan présente le phénomène du polymorphisme [34,35].

- **Durée de conservation** : 3 ans [36].

### 3. Identification

Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge.

Comparaison : irbesartan SCR.

## Introduction

La chromatographie est un ensemble de procédés applicables à des mélanges moléculaires ou ioniques, basés sur des différences de distribution des solutés entre une phase stationnaire et une phase mobile continue: les deux phases étant mises en contact intime et à contre courant [37].

Avant les années 1970, un petit nombre de méthode chromatographique est utilisé dans les laboratoires. Ultérieurement, des colonnes ouvertes sont utilisées pour initier l'introduction de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) dans la séparation des composés chimiques complexes [38].

C'est l'une des techniques chromatographiques les plus employées actuellement dans les laboratoires d'analyse chimique. Son succès est du à la meilleure exploitation des mécanismes d'interactions, aux grandes efficacités des phases stationnaires de plus en plus fines ( $3\mu$ ) et au progrès importants effectués dans le domaine d'appareillage [39].



Figure 10: Appareillage en HPLC [40].

### 1-Principe de l'HPLC

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution d'abord, puis elle sera introduite dans la phase mobile liquide (éluant). Grâce à la répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire, chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire, et une force de mobilité due à la phase mobile. Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile, poussée par une pompe sous forte pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié.

Les différents solutés sont représentés par des pics. L'ensemble des pics enregistrés est appelé **chromatogramme**.

Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des molécules des composés d'un mélange entre deux phases non-miscibles : l'une mobile et l'autre stationnaire [38].

Ce principe est traduit par le schéma suivant :

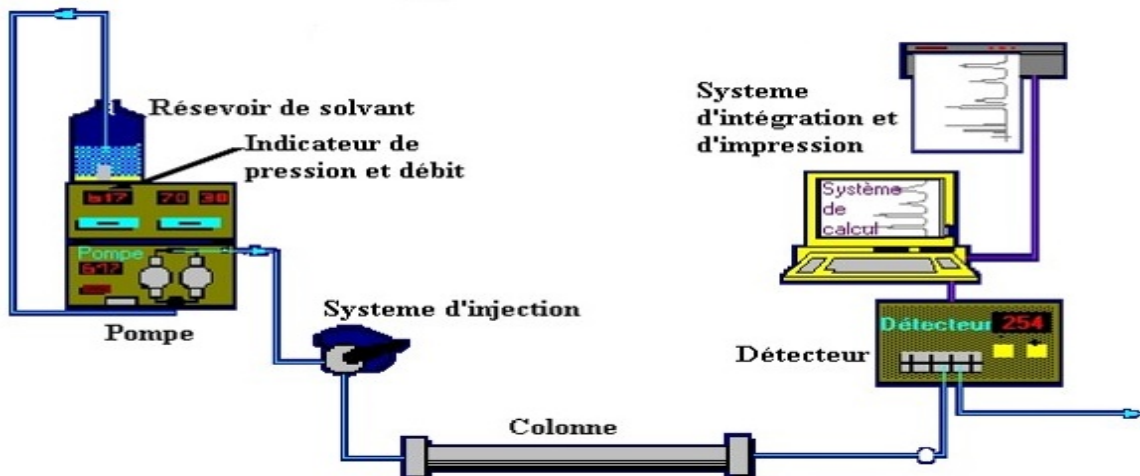


Figure 11 : principe de fonctionnement d'une chaîne HPLC [38].

## 2. Appareillage :

Les différentes composantes d'une chaîne HPLC sont présentées sur le schéma suivant. Tous les organes du système sont liés à un micro-ordinateur qui pilote tous le processus [37].

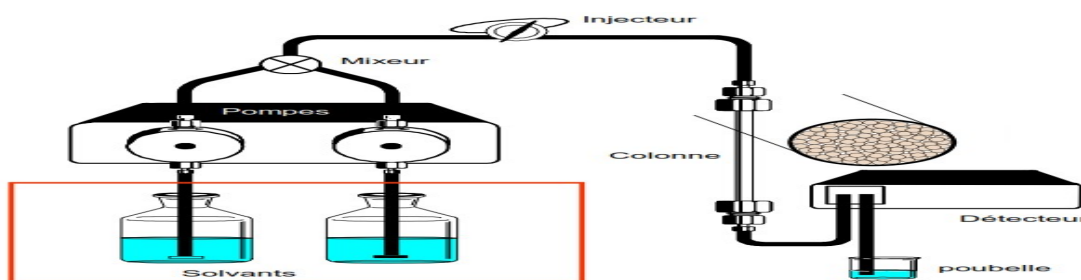


Figure 12: Les organes d'une machine HPLC.

L'appareillage se compose d'un réservoir contenant la phase mobile, d'un système de pompage, d'un injecteur, d'une colonne chromatographique (éventuellement thermostatée), d'un détecteur et d'un système d'acquisition des données (avec un logiciel pour traiter les signaux [37]).

## 2.1. Réservoirs de phases mobiles (éluant)

C'est un flacon en verre ou acier inoxydable d'un volume de 0.5 à 2L dans lequel plonge un tube avec une extrémité filtrante (éliminer les poussières), il est parfois muni d'un système de dégazage (barbotage de gaz inerte) [41].

## 2.2. Systèmes de pompage

Toute installation d'HPLC comporte au moins une pompe, pour forcer le passage de la phase mobile à travers la colonne dont le remplissage est très compact. [39].

Actuellement les paramètres d'une pompe sont :

- débit : 0,01 à 10 ml/ min.
- stabilité < 1% (<0,2% pour des chromatographies d'exclusion diffusion).
- pression maximale > 350 bars.

Certaines sont pilotées par informatique (bien utile lors de l'utilisation de gradient d'éluant [41].

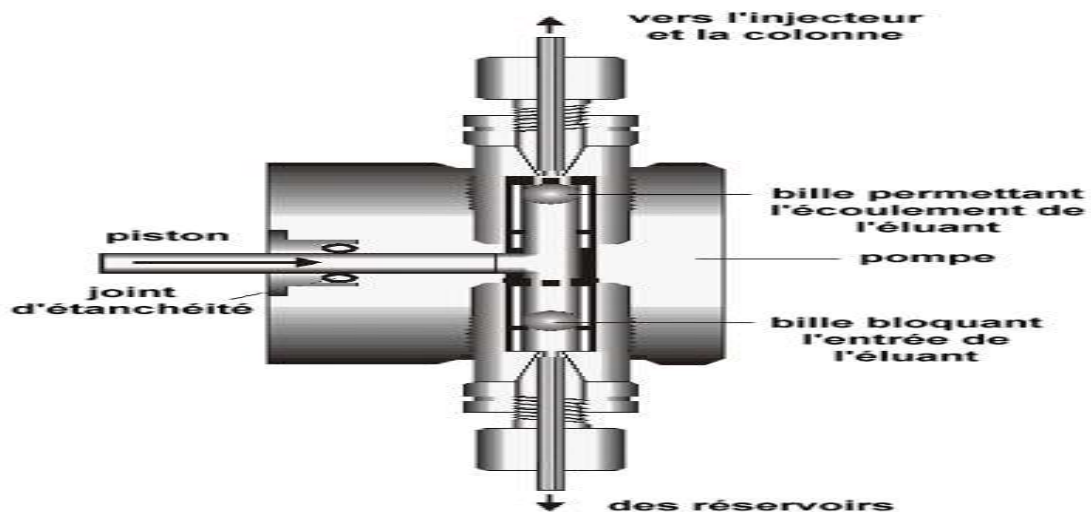


Figure 13 : Pompe de l' HPLC [40].

## 2.3. Injecteurs :

Les procédés d'introduction des échantillons dépendent des volumes des solutions à chromatographier et des pressions aux quelles s'effectuent les séparations

- Procédés par injection directe.
- Procédés par boucles [42].

Le type d'injecteur le plus couramment utilisé comporte une vanne à boucle d'échantillonnage d'une capacité fixe (10, 20, 50  $\mu$ l.). Cette boucle permet d'introduire l'échantillon sans modifier la pression dans la colonne [42].

## 2.4. Colonnes

La colonne se présente comme un tube, souvent en acier inoxydable ou en verre, de longueur de 5 à 25 cm et de diamètre différent selon le modèle.

La colonne analytique est souvent précédée d'une pré colonne (colonne de garde) courte (0,4 à 1 cm), remplie de même phase stationnaire, ce qui sert à retenir certaines impuretés. On augmente ainsi la durée de vie de la colonne principale [42].



Figure 14 : colonne analytique HPLC-C18-USB L1 [43].

### 2.5. Détecteurs- enregistreur

Le détecteur suit en continu l'apparition des solutés. Pour détecter, on utilise différents phénomènes physico-chimiques. Le signal obtenu est enregistré en fonction du temps. Le détecteur le plus utilisé en HPLC est un spectrophotomètre d'absorption UV-visible (190- 600 nm) relié à la sortie de colonne [41].

### 2.6. Intégrateur

Il s'agit d'un petit ordinateur qui récupère les données issues du détecteur, trace les chromatogrammes et intègre la surface des pics. Une intégration consiste à mesurer la surface sous un pic mais avant tout chercher à séparer correctement les pics avant de les intégrer [41].

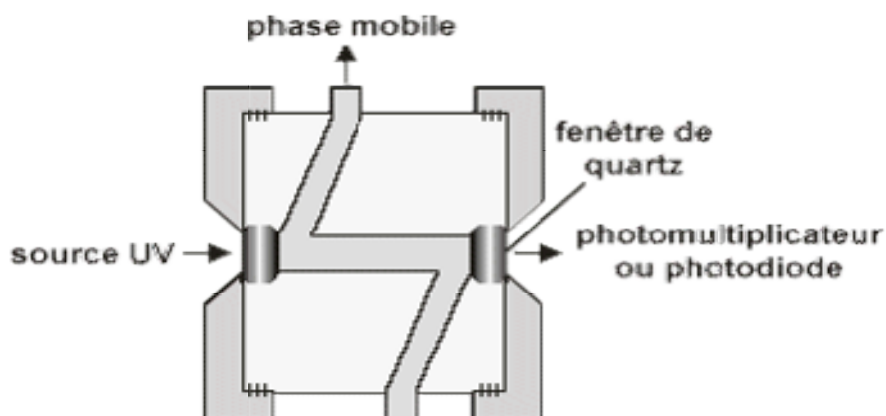


Figure 15 : Schéma d'un détecteur UV-visible [40].

## 3. Application de l'HPLC à l'analyse

Les applications sont innombrables. L'HPLC est un très bon complément de la chromatographie en phase gazeuse pour :

- Les substances peu volatiles : molécules de masse molaire  $> 300$  ;

- Substances thermolabiles : comme le médicament issu de la biotechnologie ou les composés d'origine biologique ;
- Les substances ionisées. L'HPLC couvre tous les domaines d'application. Citons dans les domaines de l'agroalimentaire et de la pharmacie [44].

Un chromatogramme est un diagramme montrant l'évolution du signal du détecteur (proportionnel à la concentration en soluté) en fonction du temps d'élution (plus rarement du volume d'élution [39]).

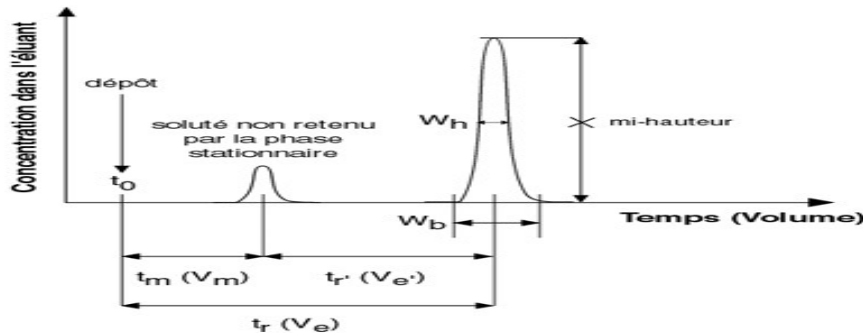


Figure 16 : informations importées par un chromatogramme [39].

### Caractéristiques du chromatogramme:[39]

$T=0$  : Le temps du début d'injection.

$t_m$ : Le temps mort : est le temps mis par un composé non retenu par la phase stationnaire pour traverser la colonne (temps passé dans la phase mobile).

$t_r$ : Le temps de rétention : est le temps mis par le soluté pour traverser la colonne. C'est le temps qui caractérise d'un soluté dans des conditions d'analyse donnée.

La surface du pic est en fonction de la quantité du constituant dont il est la trace.

$t'_r$  ; Le temps de rétention réduit : est le temps passé par un soluté dans la phase stationnaire, soit :

$$t'_r = t_r - t_m$$

$\omega$  : La largeur du pic à la base, mesurée à 13,5 pour cent de la hauteur du pic.

$\omega_{1/2}$  ou  $\delta$ : La largeur du pic à mi hauteur exprimée en unité de temps.

$h$  : La hauteur du pic.

Ecart type relatif des aires du pic  $\frac{1}{16} \sum (y_i - Y')^2$

Avec :

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

$Y' = 1/16 (y_1 + y_2 + \dots + y_6)$  la moyenne des aires du pic.

On peut calculer l'écart type relatif en pourcentage :

$$\% \text{ RSD} = 100 \sigma / Y'$$

RSD : Relative Standard Deviation.

### 2-Grandeurs de rétention [41].

Ce sont :

#### ➤ Temps de rétention

Le temps de rétention est une grandeur caractéristique d'un analyte dans des conditions opératoires données, c'est le temps écoulé entre l'injection et le maximum du pic du composé élué, noté  $t$  et exprimé

en minutes. On utilise ce paramètre pour identifier les composés dans un chromatogramme. Il varie en fonction du débit de la phase mobile et de leur composition, de la température d'élution et de la nature de colonne utilisée.

Le temps de rétention  $t_r$  d'un soluté est fonction de son affinité avec l'éluant d'une part et avec la phase stationnaire d'autre part. A un instant  $t$ , le soluté est à la concentration  $C$  dans la phase mobile et à la concentration  $C_s$  dans la phase stationnaire, leur rapport est appelé coefficient de partage noté  $K$ .

$$K = C_s/C_m$$

Le coefficient de partage dépend de trois types d'affinités : la première celle entre le soluté et la phase mobile, la deuxième entre le soluté et la phase stationnaire, la troisième entre les deux phases. La surface ou la hauteur du pic chromatographique est proportionnelle à la masse ou à la concentration du produit injecté.

#### ➤ Temps mort

Le temps mort est le temps nécessaire pour qu'un composé non retenu traverse la colonne ; il est noté  $t_m$  ou  $t_0$  et exprimé en minutes.

$$t_m = t_0 = L/V$$

Avec :

$L$  : la longueur de la colonne.

$V$  : la vitesse de la phase mobile.

#### ➤ Volume de rétention

C'est le volume de la phase mobile nécessaire pour éluer un composé d'un mélange à analyser. Ce volume est caractéristique d'un seul composé dans des conditions opératoires données. Il est lié au temps de rétention  $t$  d'un soluté et au débit d'écoulement de la phase mobile  $D$ .

Le volume de rétention est noté  $V_r$ .

$$V_r = t_r \cdot D.$$

#### ➤ Facteur de rétention

Le facteur de rétention  $k'$  représente l'affinité d'un composé vis-à-vis de la phase stationnaire. C'est un paramètre important indépendant du débit de la phase mobile et des dimensions de la colonne. Si pour deux analyses identiques, dans les mêmes conditions opératoire, on obtient deux valeurs de temps de rétention identiques et deux valeurs de  $k'$  différentes, cela signifie qu'il y a une fuite de phase mobile avant la colonne. Et si on a deux valeurs de  $t_r$  et deux valeurs de  $k'$  différentes, ce qui indique qu'il y a des problèmes au niveau de la phase mobile ou phase stationnaire.

$$k' = (t_r - t_m) / t_m$$

### 3- Analyse qualitative

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

L'efficacité d'une colonne analytique d'une chaîne HPLC peut s'exprimer par le nombre N de plateaux théoriques.

Plus le nombre des plateaux théoriques N sont élevés, plus la colonne est efficace. On définit également HEPT, la hauteur équivalente à un plateau théorique, et L, la longueur de la colonne. Plus la hauteur du plateau HEPT est faible, plus la colonne est efficace. Il existe une équation dite équation de Knox en chromatographie liquide à haute performance qui relie la hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT) à la vitesse linéaire moyenne de la phase mobile. L'efficacité N traduit la finesse des pics [38].

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

L'efficacité d'une colonne dépend de trois facteurs principaux

- De sa géométrie : plus une colonne sera longue et plus elle sera efficace.
- De son garnissage : plus les particules de silice seront fines et plus la colonne sera efficace.
- Du débit de l'éluant : Il existe un débit optimal d'utilisation d'une colonne pour son efficacité est la plus grande. Dans le cas où les pics sont symétriques et gaussiens, le nombre de plateaux théoriques sera calculé selon la relation :

$$N = 16(t_r / \omega)^2$$

Si les pics sont non symétriques :

$$N = 5.54 (t_r / \omega_{1/2})^2$$

Avec : t : Temps de rétention.

$\omega$  : Largeur de pic à la base.

$\omega_{1/2}$  : largeur du pic à mi-hauteur

Les facteurs d'élargissement des pics [39].

**La diffusion turbulente :** l'élargissement est expliqué par le fait qu'il existe différents chemins parcourus par les molécules d'un soluté. La longueur des chemins n'étant pas la même, elles ne mettent pas toutes le même temps pour traverser la colonne : le pic s'élargit. Ce phénomène est fonction des particules et de la régularité du remplissage.

**La résistance au transfert de masse :** de la phase mobile dans les anfractuosités du support. Les molécules qui y diffusent vont moins vite que celles qui n'y diffusent pas vite que celles qui n'y diffusent pas.

**La diffusion longitudinale :** ce phénomène diminue plus la vitesse de la phase mobile augmente.

En conclusion l'efficacité calculée d'une chromatographie, représentée par la HEPT, est fonction de la vitesse de la phase mobile donc du débit, et de la qualité (régularité, remplissage) de la phase stationnaire [39].

### Qualité de la séparation

Une bonne séparation se traduira par une séparation distincte des pics correspondant à chacun des produits [39].

#### ❖ La sélectivité [38]

On définit la sélectivité  $\alpha$  d'une séparation par le rapport de facteur de distribution ( $K_1$  et  $K_2$ ) de deux solutés. Plus  $K$  est grand, plus le composé est adsorbé fortement dans la phase stationnaire et plus la rétention est grande et inversement. La valeur de  $k$  dépend de la structure du composé qui détermine son affinité pour chacune des deux phases.

$$\alpha = K_1 / K_2$$

$\alpha$  est égale à 1 lorsqu'il n'y a pas une séparation entre deux signaux consécutifs.

#### ❖ La résolution $R_s$ [40]

La résolution est une mesure de la qualité d'une séparation de point de vue chevauchement de deux signaux consécutifs. Elle est exprimée à partir des temps de rétention. La résolution est calculée à partir de la relation suivante :

$$R_s = 2 (t_{r2} - t_{r1}) / (\omega_{1/2(1)} + \omega_{1/2(2)})$$

Avec : Si  $R_s < 1$  : une mauvaise résolution ;

Si  $1 < R_s < 1,5$  : une résolution acceptable ;

Si  $R_s \geq 1,6$  : une bonne résolution ;

Si  $1,4 < R_s < 1,6$  : une résolution optimale.

Deux caractéristiques déterminent le degré de recouvrement des pics :

- La distance séparant les sommets de deux pics mesurée par les temps de rétention  $t_{r2}$  et  $t_{r1}$
- La largeur des pics à la base  $\omega_{1/2(1)}$  et  $\omega_{1/2(2)}$ .

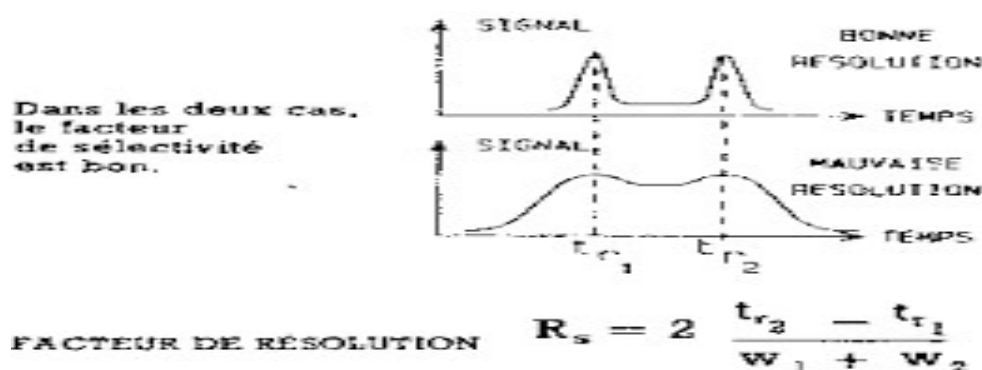


Figure 17 : qualité de séparation des pics [43].

### 4.3. Analyse quantitative [39]

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

injectée et la concentration du soluté, à condition de toujours injecter le même volume de solution. On écrira donc :  $A = K_c \cdot C$

A = air du pic.

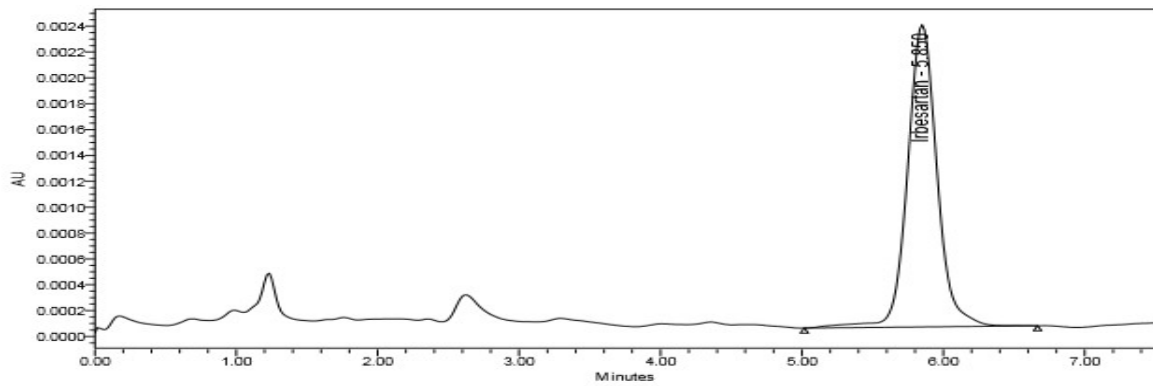
K = coefficient de réponse du détecteur.

C = concentration du composé injecté.

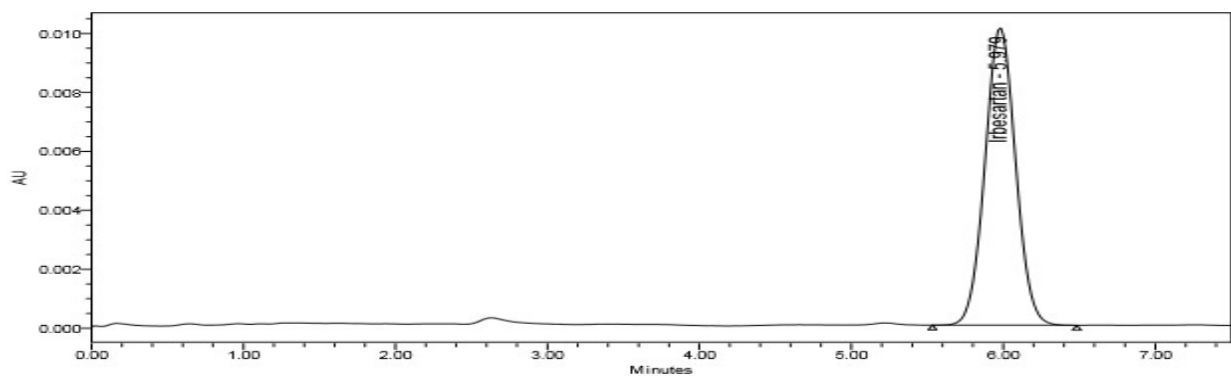
La chromatographie liquide à haute performance est utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour analyser les matières premières et les produits finis afin d'assurer que les niveaux de qualité préétablis sont respectés. Sa large utilisation est due à sa capacité d'agir d'une manière très précise sur la sélectivité par le choix de la colonne et de la composition de l'éluant, autrement dit à la meilleure exploitation des interactions soluté-phase mobile-phase stationnaire.

## Chromatogrammes de validation

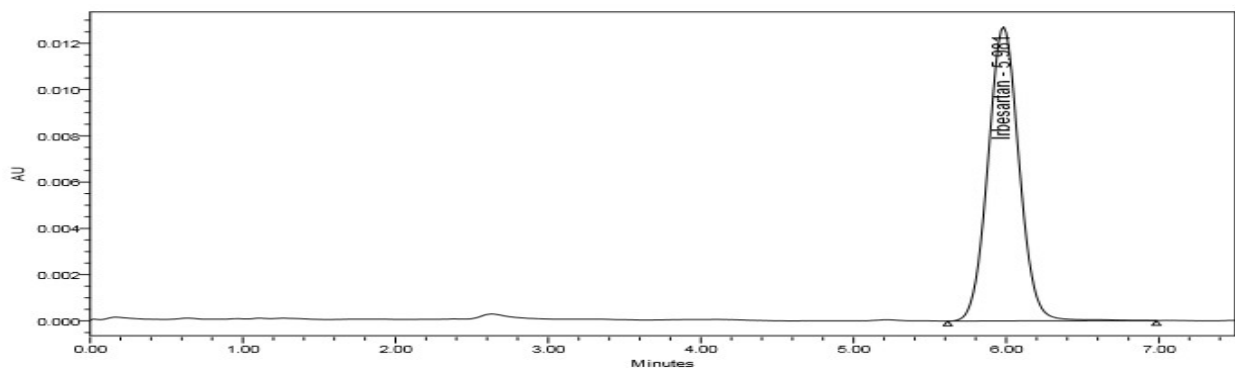
SE série 3 10mg



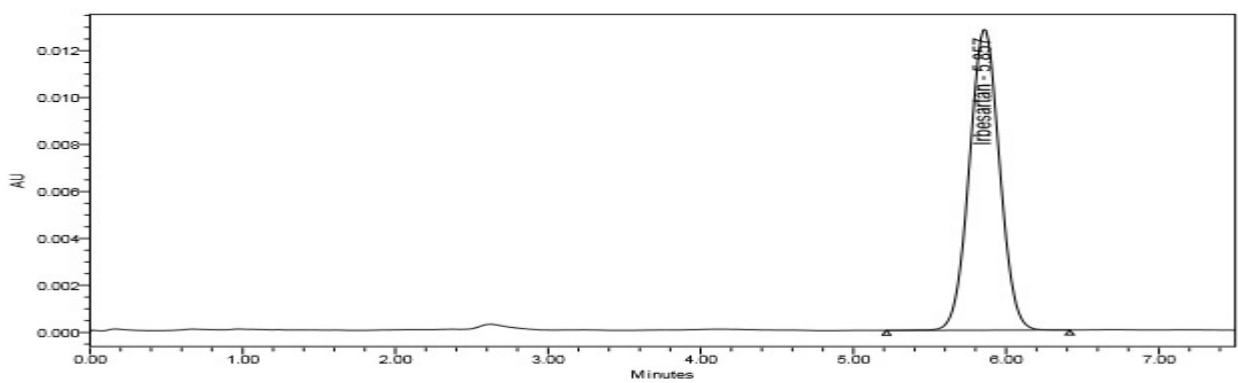
SE série 1 40mg



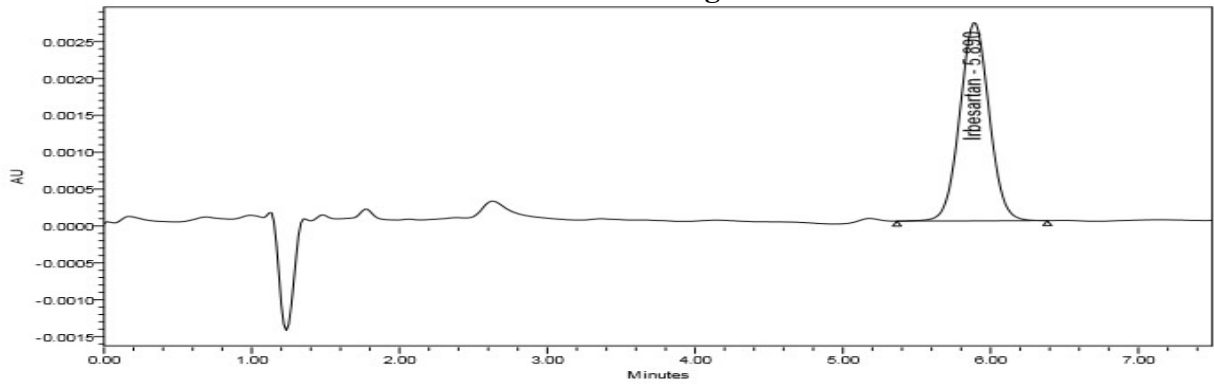
SE série 1 50mg



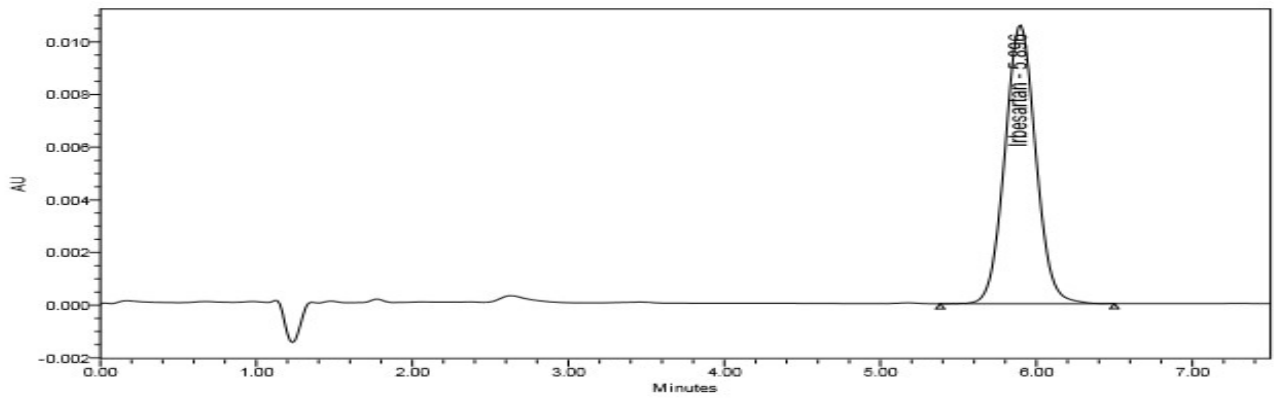
SE série 3 50mg



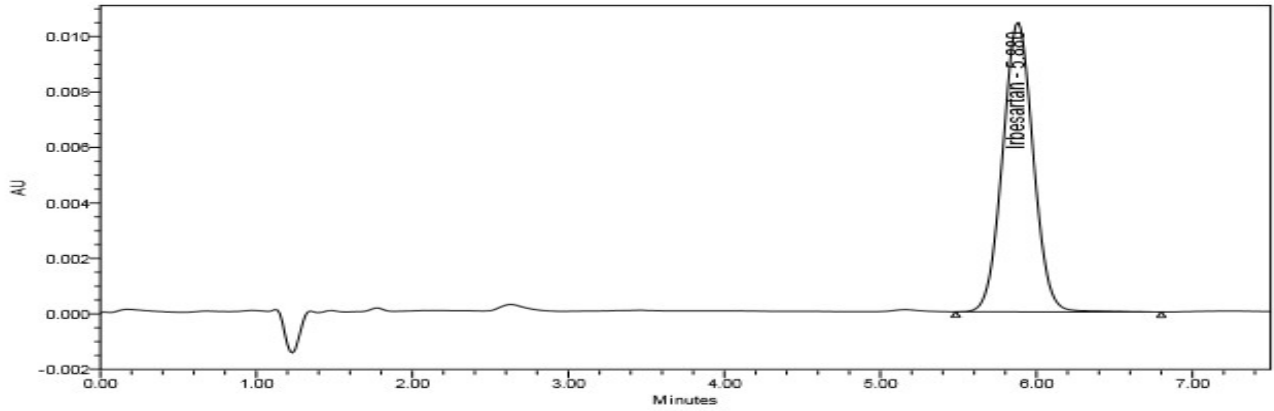
SV série 2 10mg



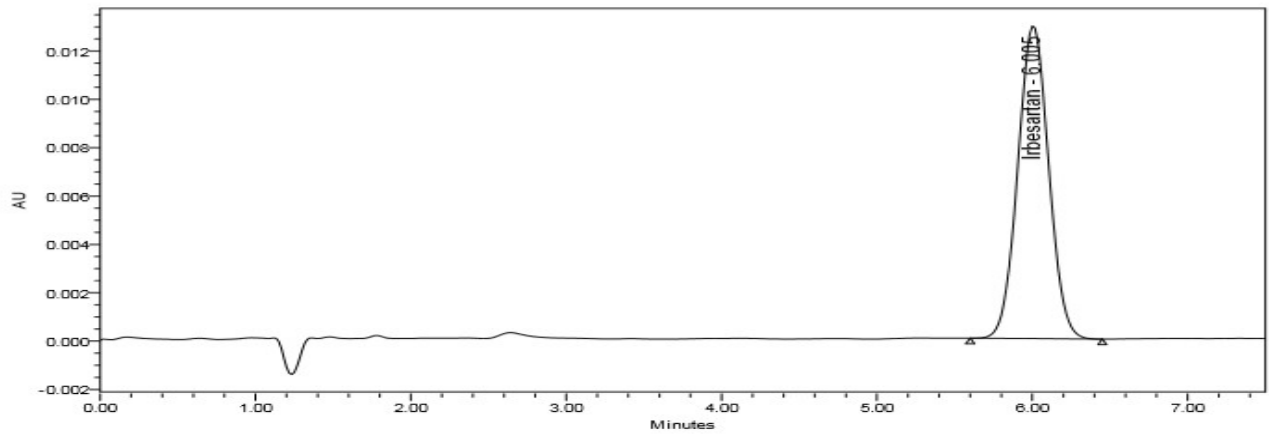
SV série 2 40mg



SV série 3 40mg



SV série 1 50mg



## Tableaux des aires des pics

## SV série 1

**Component Summary For Area**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	IRBESARTAN
1	STD 30MG H2O E01 1J	1	W2489 ChA	12	104079
2	STD 30MG H2O E02 1J	1	W2489 ChA	13	103960
3	STD 30MG H2O E03 1J	1	W2489 ChA	14	104702
Mean					104247
Std. Dev.					398
% RSD					0.4

## SV Série 2

**Component Summary For Area**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	IRBESARTAN
1	STD 30MG H2O E01 2j	1	W2489 ChA	37	105561
2	STD 30MG H2O E02 2j	1	W2489 ChA	38	103271
3	STD 30MG H2O E03 2j	1	W2489 ChA	39	105566
Mean					104799
Std. Dev.					1324
% RSD					1.3

## Chromatogrammes de nettoyage

## Standard 1 2ème essaie

**Area Summarized by Name**  
**Channel: 2998 Ch1 237nm@1.2nm**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Irbesartan
1	STD 01	1	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111917
2	STD 01	2	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	112381
3	STD 01	3	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	112025
4	STD 01	4	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111796
5	STD 01	5	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111612
6	STD 01	6	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111250
Mean					111830
Std. Dev.					383
% RSD					0.3

## Standard 1

Area Summarized by Name  
Channel: 2998 Ch1 237nm@1.2nm

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Irbesartan
1	STD 01	1	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111670
2	STD 01	2	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	110802
3	STD 01	3	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111345
4	STD 01	4	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111930
5	STD 01	5	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111500
6	STD 01	6	2998 Ch1 237nm@1.2nm	2	111762
Mean					111501
Std. Dev.					399
% RSD					0.4

## Standard 2 2ème essaie

Area Summarized by Name  
Channel: 2998 Ch1 237nm@1.2nm

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Irbesartan
1	STD 02	1	2998 Ch1 237nm@1.2nm	3	141649
2	STD 02	2	2998 Ch1 237nm@1.2nm	3	141761
Mean					141705
Std. Dev.					79
% RSD					0.1

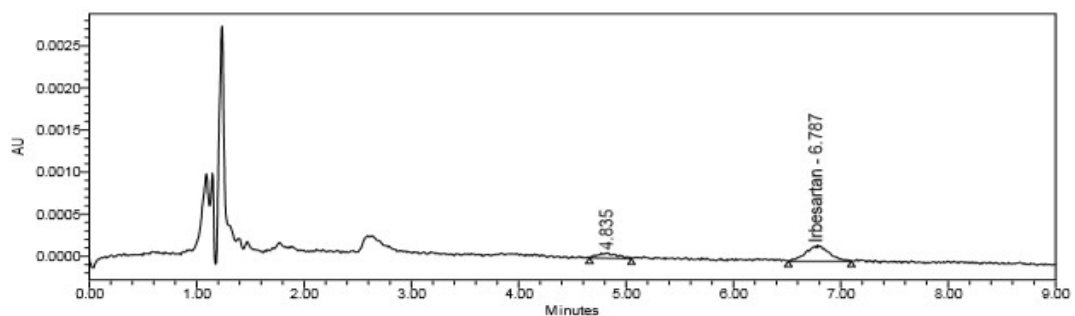
## Standard 2

Area Summarized by Name  
Channel: 2998 Ch1 237nm@1.2nm

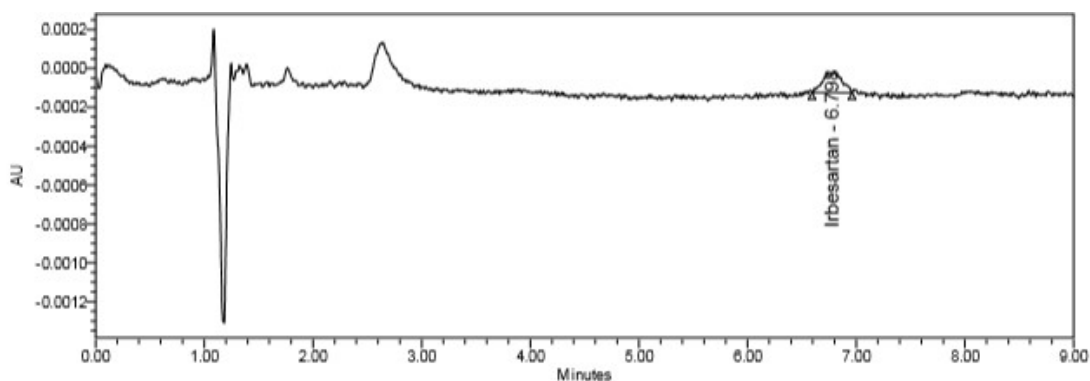
	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Irbesartan
1	STD 02	1	2998 Ch1 237nm@1.2nm	3	112018
2	STD 02	2	2998 Ch1 237nm@1.2nm	3	111541
Mean					111780
Std. Dev.					337
% RSD					0.3

1<sup>er</sup> série

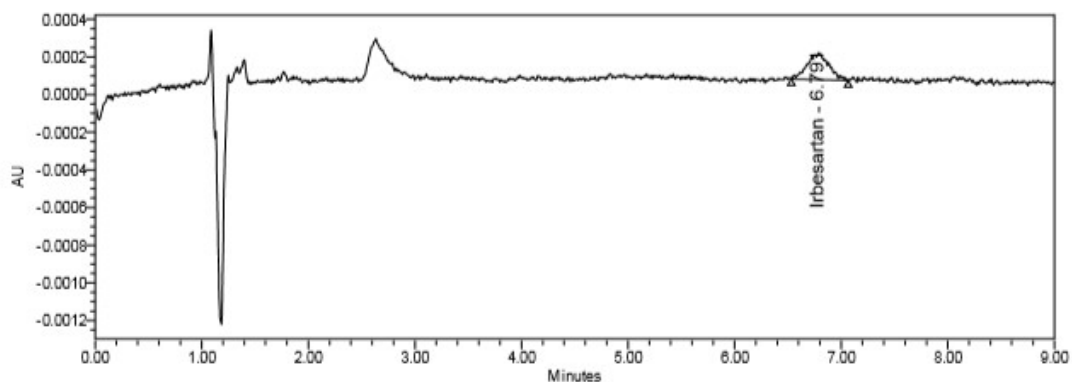
## Série 1 Pipette 1ml



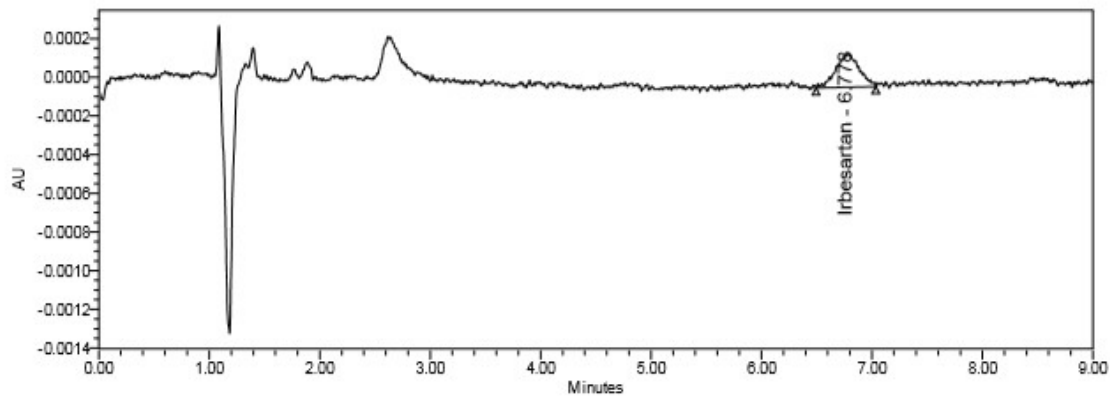
Pipette 2 ml



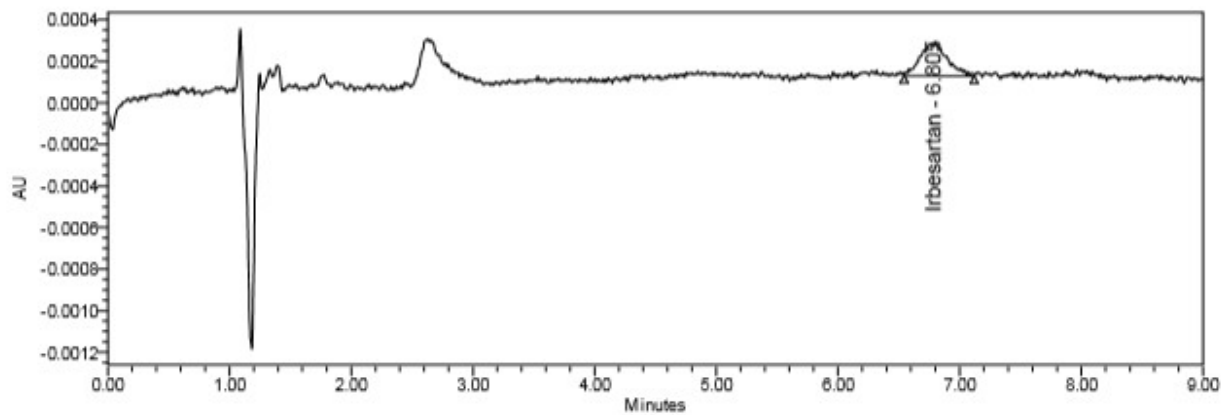
Pipette 5 ml



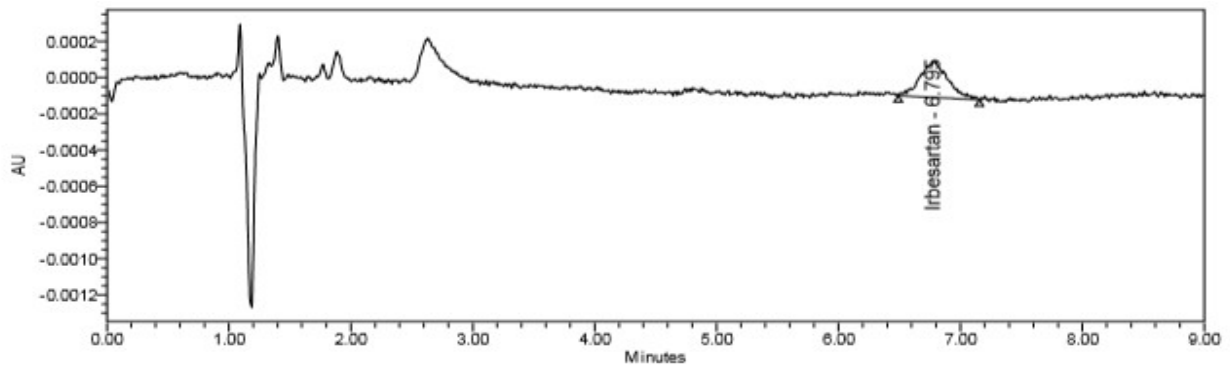
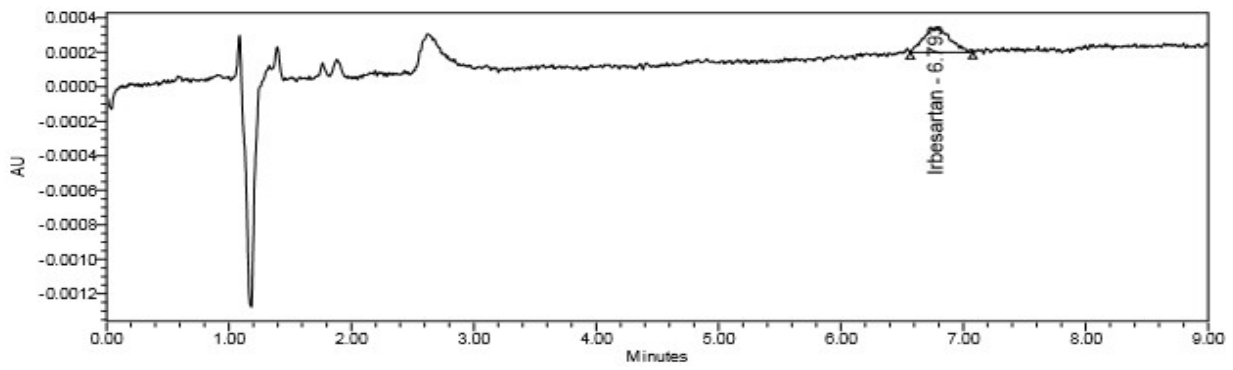
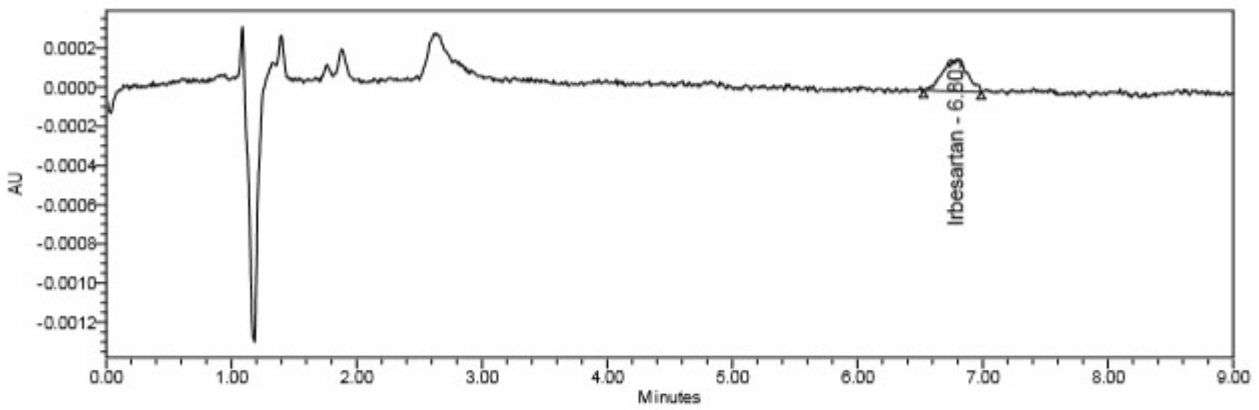
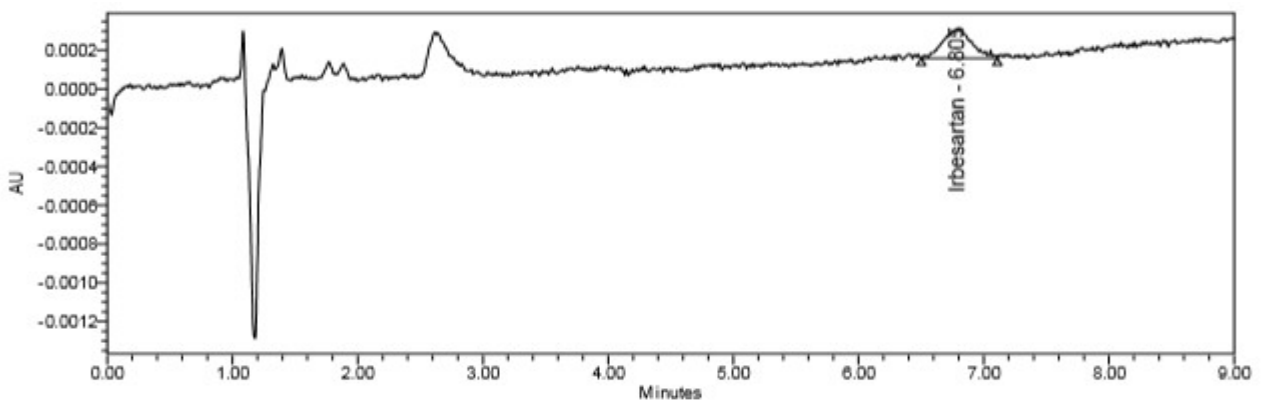
Pipette 10 ml



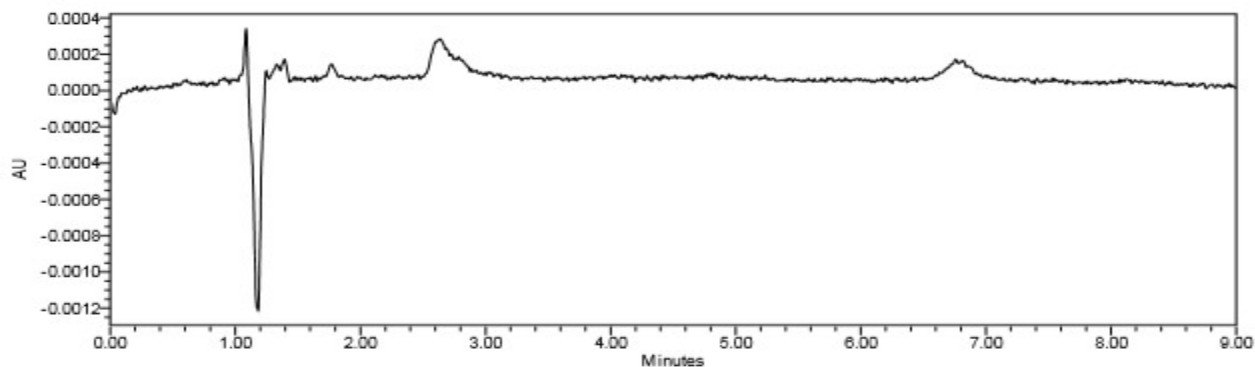
Fiole 10 ml



Fiole 20 ml

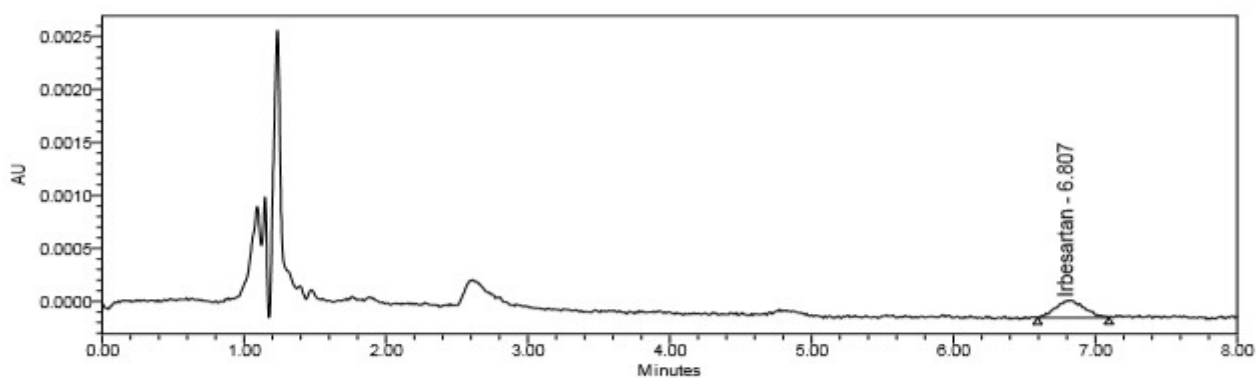
**Fiolo 50 ml****Fiolo 100 ml****Becher**

viale

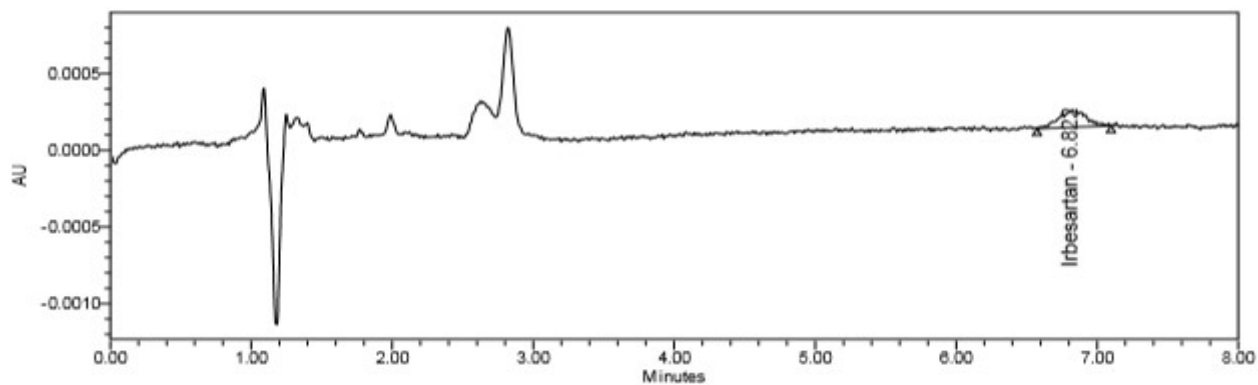


2ème série

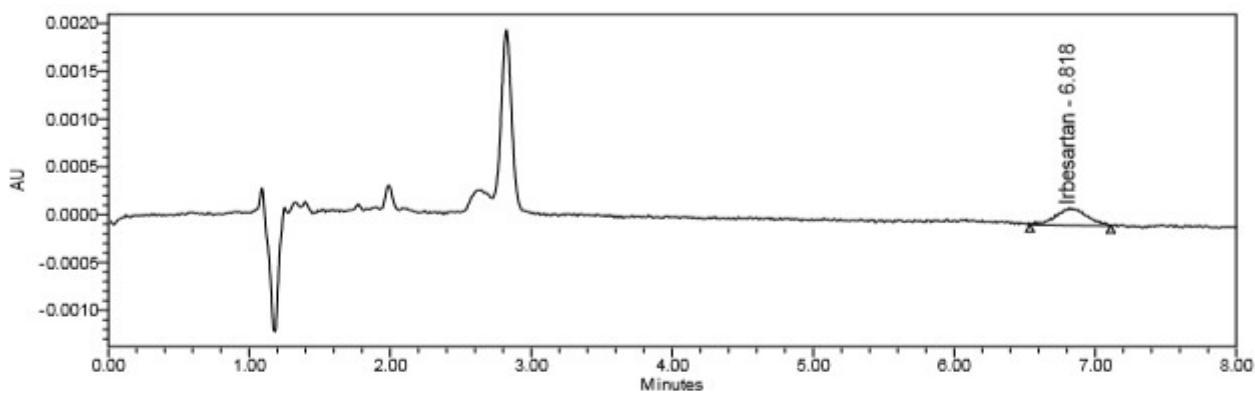
Pipette 1ml



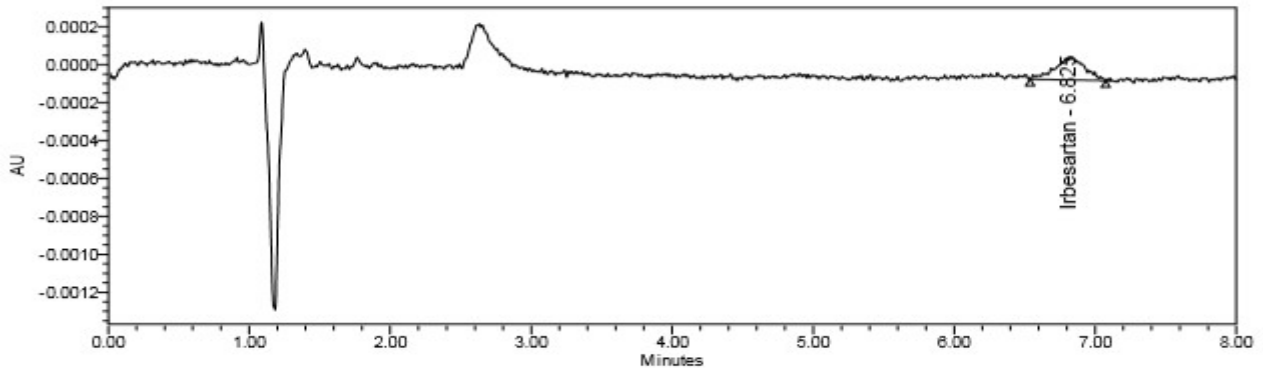
Pipette 2 ml



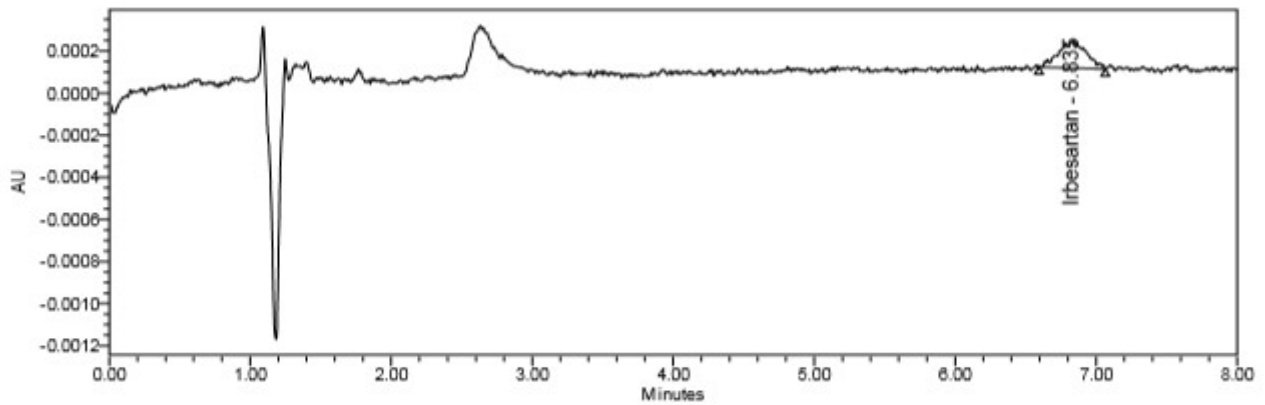
Pipette 5 ml



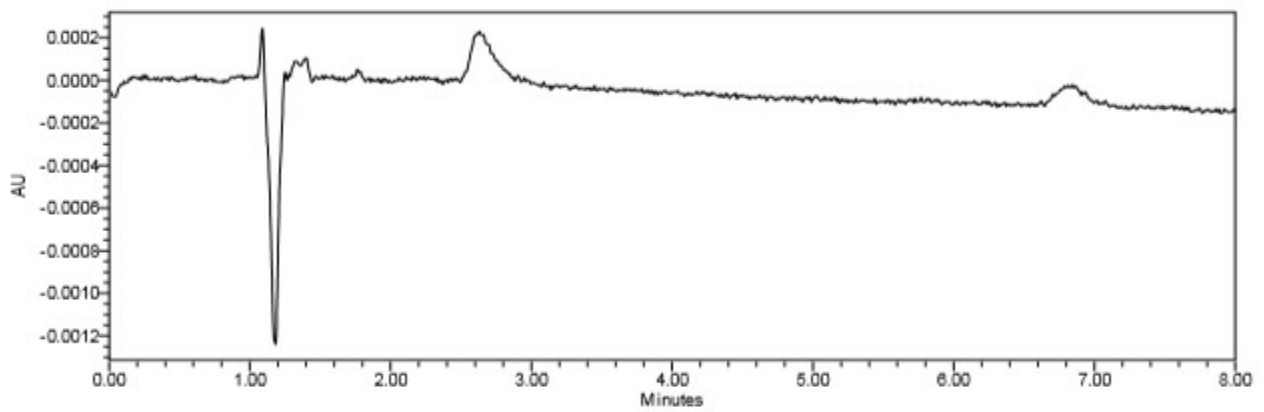
Pipette 10 ml



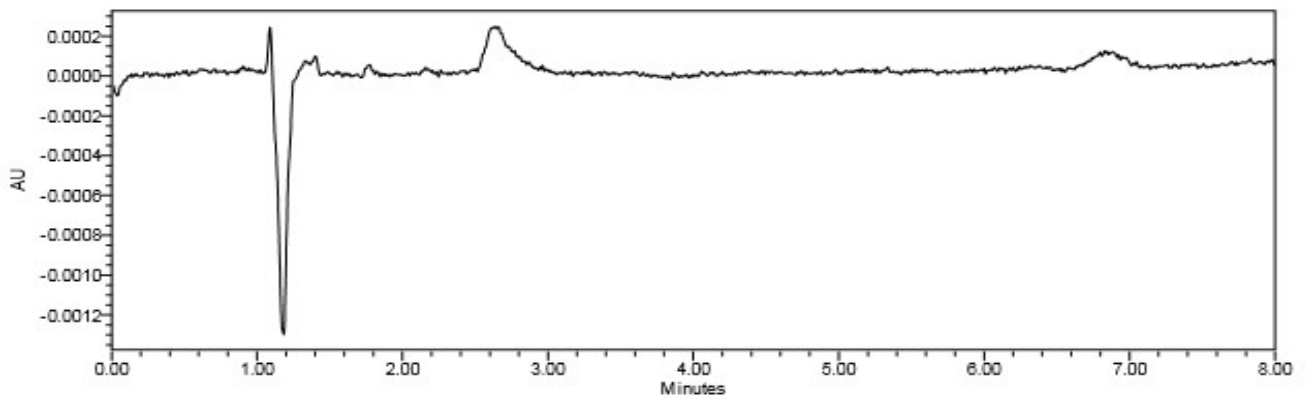
Fiole 10 ml



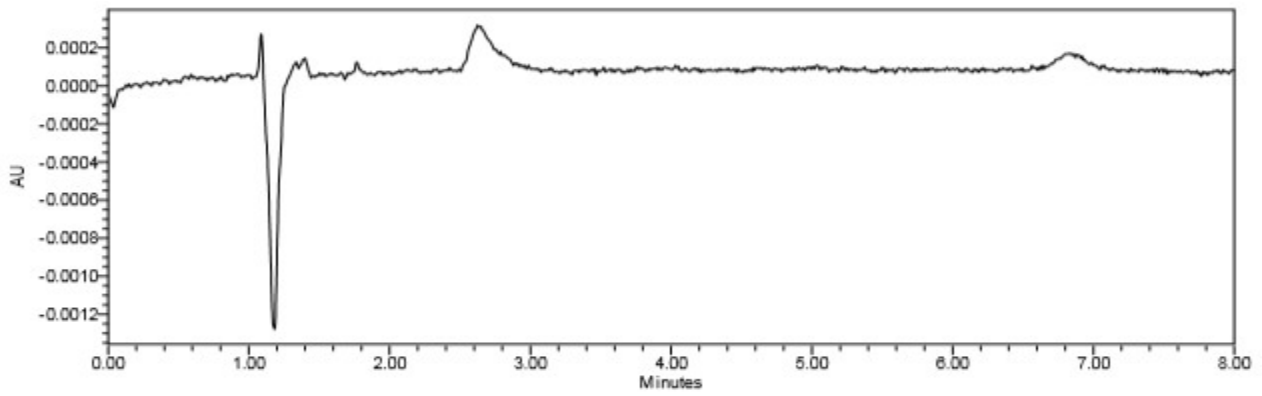
Fiole 20 ml



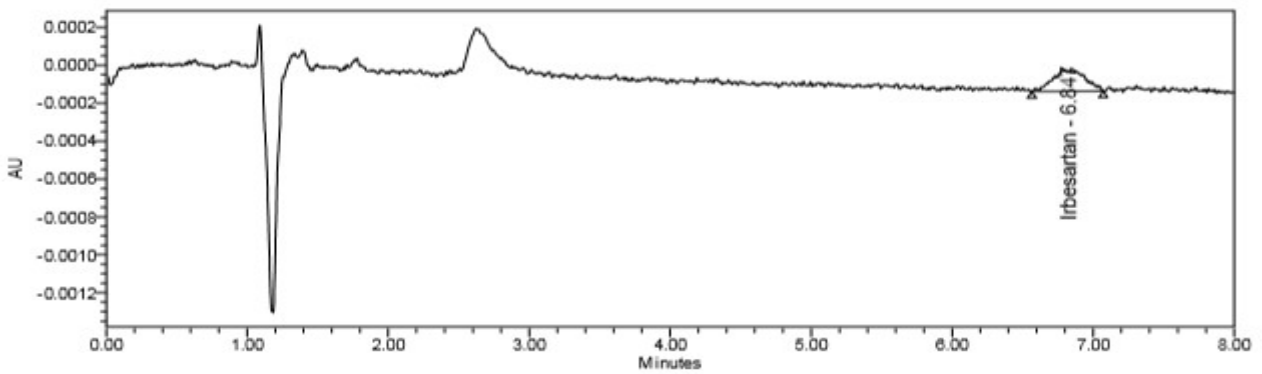
Fiole 50 ml



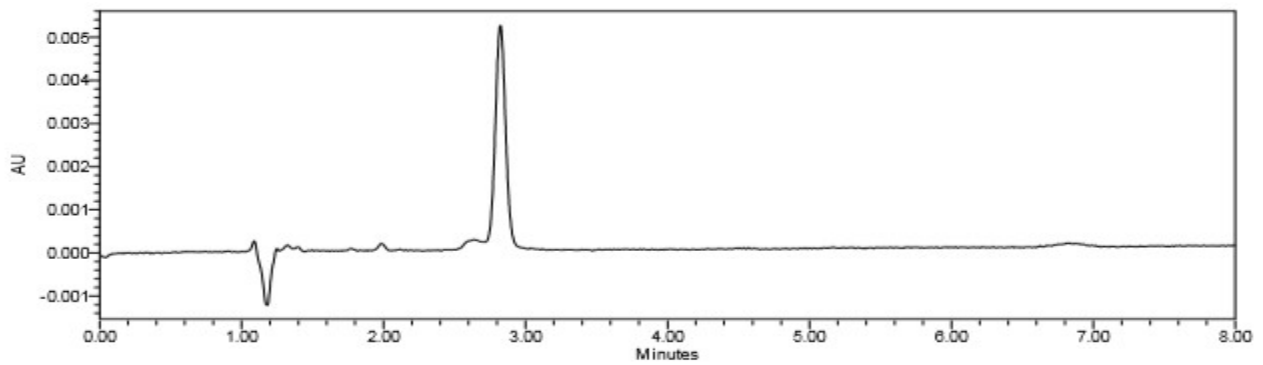
Fiole 100 ml



**Becher**

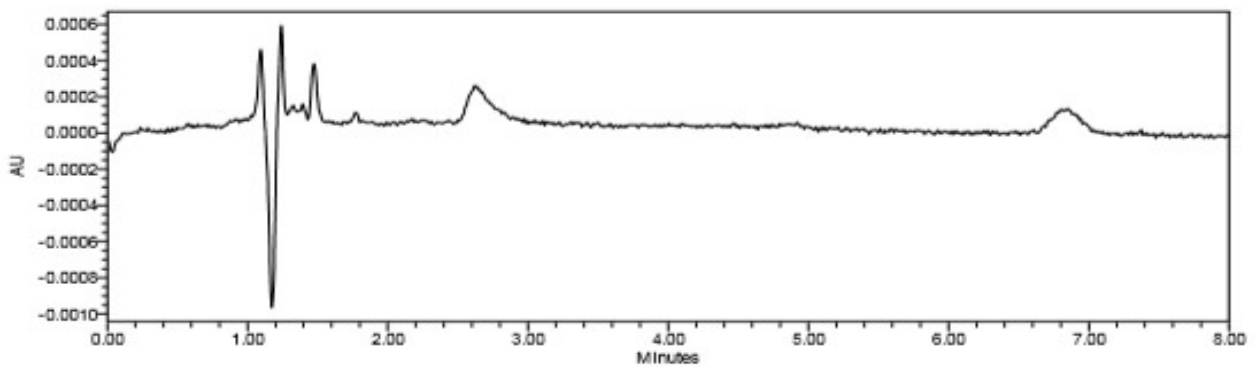


**vial**

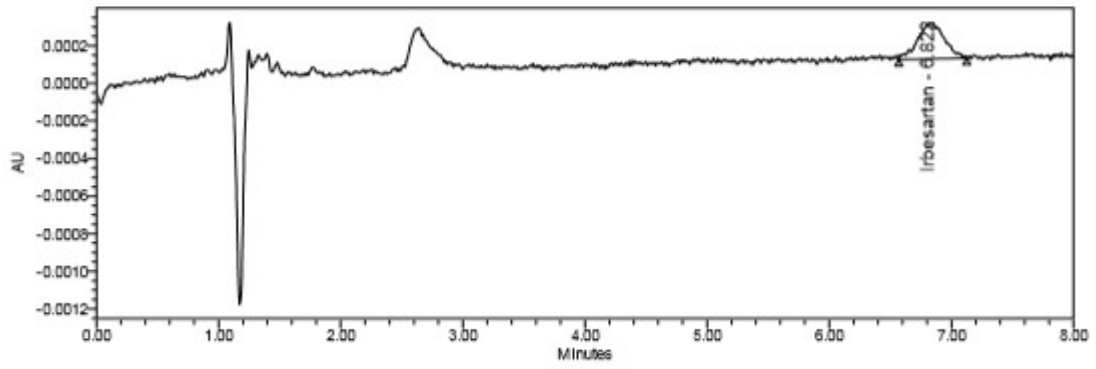
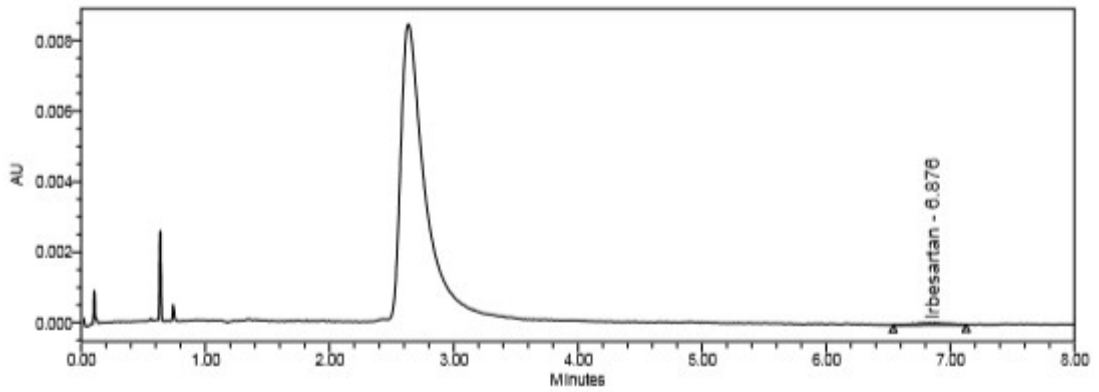
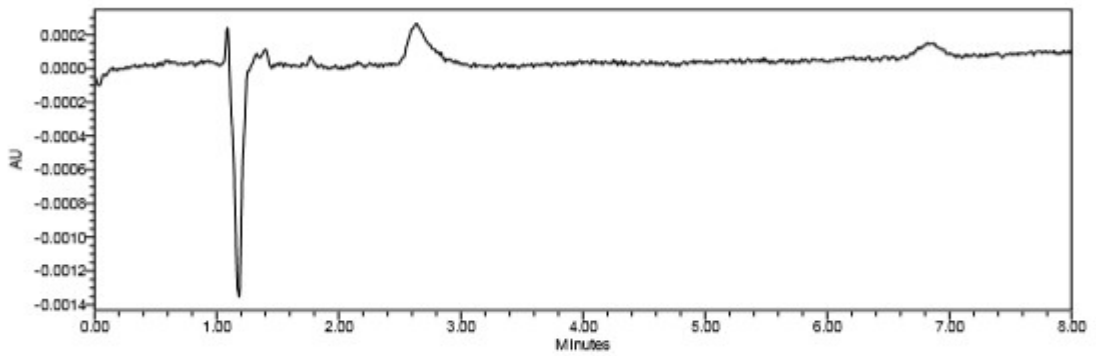
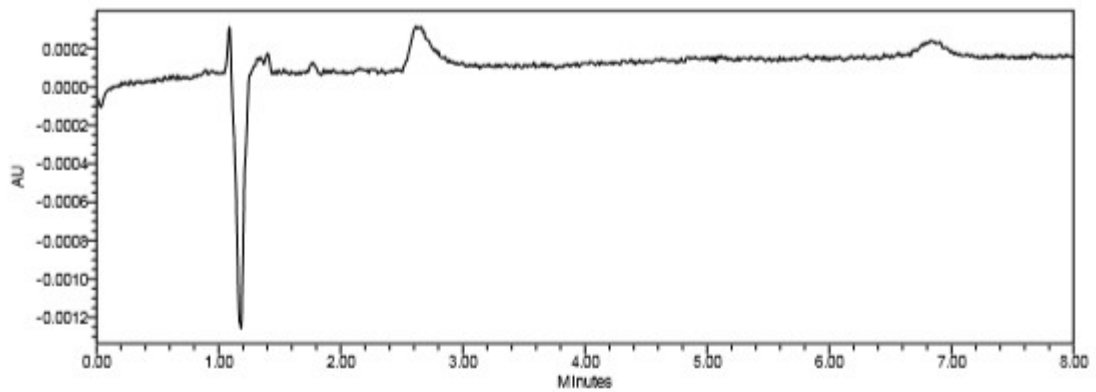


**3ème série**

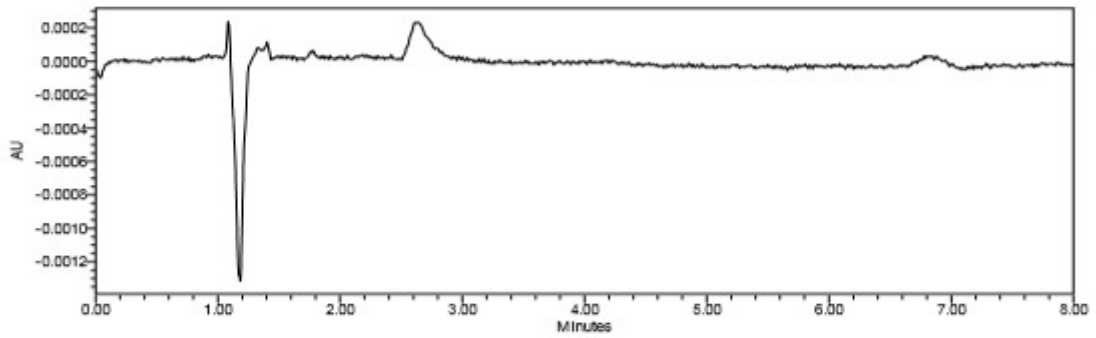
**Pipette 1 ml**



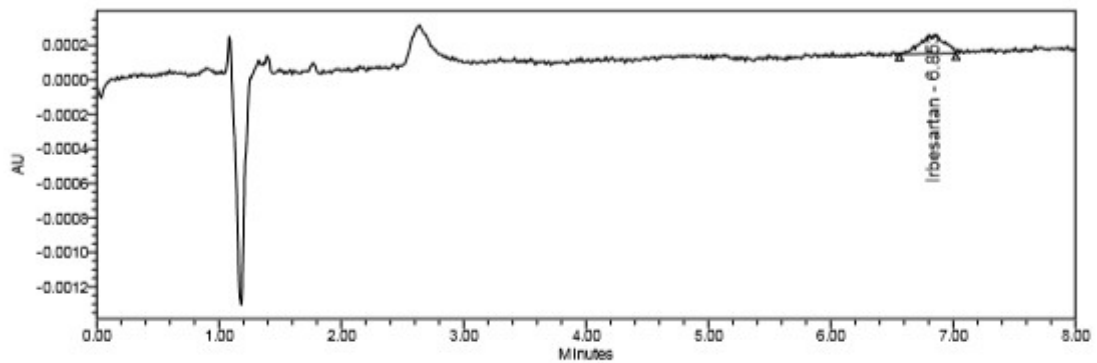
**Pipette 5 ml**

**Pipette 10 ml****Fiole 10 ml****Fiole 20 ml**

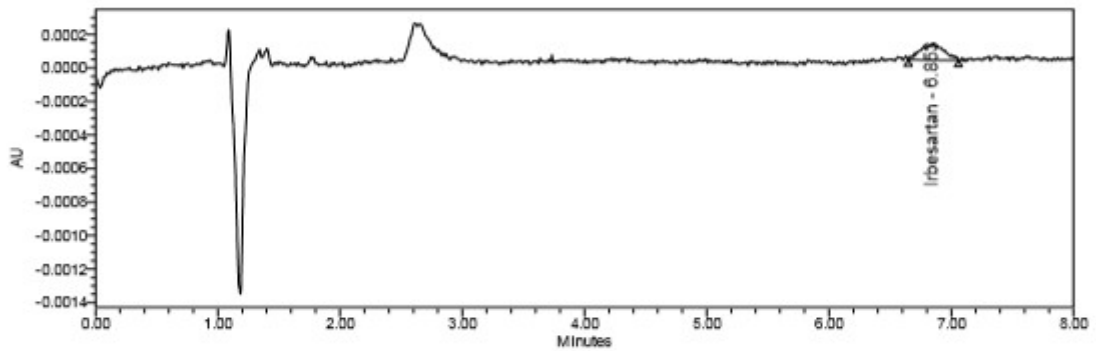
Fiole 50 ml



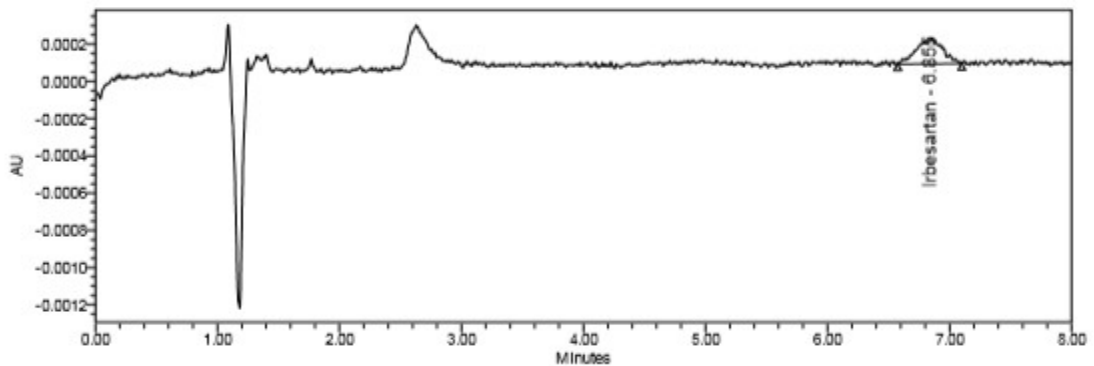
Fiole 100 ml



Becher



Viale





# RÉSUMÉ

## RESUME

---

Le contrôle qualité en industrie pharmaceutique est un composant phare de l'assurance qualité et une exigence réglementaire à laquelle doivent répondre tous les laboratoires Pharmaceutiques. Pour ce faire, ces derniers ont recouru à des méthodes analytiques qui doivent être validées.

Le but du présent travail est de mettre au point et de valider une méthode de nettoyage par dosage du l'irbesartan par chromatographie liquide à haute performance en utilisant le profil d'exactitude comme outil de décision de validation.

Au début de la validation, nous avons pu démontrer la sélectivité de la méthode d'analyse en se basant sur le test de comparaison des pentes. Ensuite et après réalisation des expériences sur une gamme d'étalonnage et une gamme de validation, nous avons calculé les différents critères statistiques des différents modèles générés pour pouvoir construire le profil d'exactitude

La technique développée s'est avérée spécifique, linéaire, sensible et exacte dans l'intervalle [1µg/ml ; 5µg/ml] avec un risque d'avoir au maximum 10% des mesures en dehors des limites d'acceptations fixées à [-10% ; +10%]. Cela atteste donc de la validité de la méthode utilisée et son aptitude à être appliquée en routine par les laboratoires de contrôle qualité pour le dosage de l'Irbesartan à l'état de traces dans un but de validation du nettoyage de la verrerie.

**MOTS CLES :** HPLC, Irbesartan, validation de nettoyage, profil d'exactitude.

### ABSTRACT

Quality control in the pharmaceutical industry is a key component of quality assurance and a regulatory requirement for all pharmaceutical laboratories. To do this, they use analytical methods that must be validated.

The purpose of this work is to develop and validate a cleaning method by determination irbesartan by high performance liquid chromatography using accuracy profile as decision tool.

After that, before the validation step, we have demonstrated the selectivity of the analytical method using student test for the comparison of the two-slope with and without the matrix. Then, a series calibration and validation standard were used to calculate the different statistical criteria for the different models tested and the accuracy profile were built for each model.

the developed technique proved to be specific, linear, sensitive and accurate in the interval [1µg/ml; 5µg/ml] with a risk of having at most 10% of the measurements outside the limits of acceptability fixed at [-10%; +10%]. This attests to the validity of the method used and its suitability for routine application by quality control laboratories for the determination of trace amounts of irbesartan for the purpose of validating glassware cleaning.

**KEY WORDS:** HPLC, Irbesartan, cleaning validation, accuracy profile.