

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
Département de Pharmacie
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري

كلية الطب

قسم الصيدلة

تيزي وزو

ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ

N° D'ordre :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

**Présenté sous forme d'article et soutenu publiquement
En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie**

Le : 08/07/2025

Sous le Thème

Application de la stratégie de contrôle de contamination en validation de nettoyage selon la nouvelle révision de l'annexe 1 des BPF.

Réalisé par :

M^r SAIDANI Aghiles

M^r BOUCHACHI Amirouche

Encadré par :

Pr MAMOU Marzouk

Membres du jury :

Pr DAOUD Kamel

Professeur

USTHB

Président

Pr MAMOU Marzouk

Professeur HU

UMMTO

Rapporteur

Dr BENSISAID Hassan

MAHU

UMMTO

Examineur

Dr DOUFENE Koceila

MCB

UMMTO

Examineur

ANNEE UNIVERSITAIRE :2024/2025.

RESUME :

Face à des exigences réglementaires de plus en plus strictes, l'industrie pharmaceutique se trouve confrontée à la maîtrise de la contamination, notamment avec l'entrée en vigueur de la version révisée de l'annexe 1 des bonnes pratiques de fabrication (BPF) en juin 2024.

Cette étude menée au sein de l'établissement pharmaceutique PROFAM SPA (filiale du groupe Biopharm), met en avant une stratégie de contrôle de contamination (SCC) intégrant un protocole de validation de nettoyage dans une ligne de production stérile. Cette nouvelle version de l'annexe 1 des BPF s'appuie sur une approche fondée sur La gestion du risque qualité (QRM), une organisation rigoureuse des zones classée, la gestion des flux de personnes et matières, et la détermination des équipements et produits pires cas selon des échelles de toxicité, solubilité et nettoyabilité.

Des mesures correctives permettent de réduire le risque de contamination tel que les limites d'acceptations abaissées en se conformant aux exigences de l'agence européennes des médicaments (EMA), ainsi que des méthodes analytiques validées qui confirment la fiabilité des résultats.

Notre travail consistait à confirmer le respect de la conception de l'unité de fabrication des médicaments stériles à l'annexe 1 des BPF suscitée suivi d'une validation du procédé de nettoyage de ladite ligne suivant la nouvelle approche basée sur la PDE.

Les résultats obtenus sur trois cycles de nettoyages après production des lots de validation d'un nouveau médicament en l'occurrence un corticoïde sous forme de spray nasal ont confirmé l'efficacité et la reproductibilité de la méthode de nettoyage, éliminant ainsi le produit worst case et les contaminants microbiologiques au-dessous des limites d'acceptation, ce qui a conclu à la validation du procédé de nettoyage de la ligne de fabrication des formes stériles.

Mots clés : contrôle de contamination, validation de nettoyage, Bonnes Pratiques de Fabrication, pires cas, QRM, EMA.

ABSTRACT :

Faced with increasingly stringent regulatory requirements, the pharmaceutical industry is confronted with the challenge of contamination control, particularly following the implementation of the revised version of Annex 1 of the Good Manufacturing Practices (GMP) in June 2024.

This study, conducted within the pharmaceutical facility PROFAM SPA (a subsidiary of the Biopharm group), highlights a contamination control strategy (CCS) that integrates a cleaning validation protocol within a sterile production line. The new version of Annex 1 emphasizes a Quality Risk Management (QRM)-based approach, a strict organization of classified areas, controlled personnel and material flow, and the identification of worst-case products and equipment based on toxicity, solubility, and cleanability scales.

Corrective measures have been implemented to mitigate contamination risk, including stricter acceptance limits in accordance with European Medicines Agency (EMA) requirements and the use of validated analytical methods to ensure data reliability.

Our work aimed to verify that the design of the sterile drug manufacturing unit complied with the revised Annex 1, followed by a validation of the cleaning process using the new PDE based approach.

The results obtained from three cleaning cycles, conducted after manufacturing validation batches of a new corticosteroid-based nasal spray, confirmed the effectiveness and reproducibility of the cleaning method. Residual worst-case product and microbiological contaminants were found to be below the defined acceptance limits, leading to the successful validation of the cleaning process for the sterile production line.

Keywords : Contamination control, cleaning validation, Good Manufacturing Practices (GMP), worst cases, QRM, EMA.

I\ INTRODUCTION :

L'industrie pharmaceutique connaît un grand essor ces dernières décennies au vu des avancées scientifiques et technologiques ainsi que de l'augmentation exponentielle de la demande sur les produits pharmaceutiques [1]. D'autre part, le domaine pharmaceutique est rigoureusement réglementé et s'inscrit dans un circuit hautement qualifié et surveillé, la fabrication obéit à des règles strictes décrites dans des référentiels notamment le guide de bonnes pratiques de fabrication [2].

Parmi les nombreux défis auxquels est confronté l'industrie pharmaceutique, le contrôle de la contamination qui au fil des années prend une place importante dans le processus de production de médicaments et ce, pour garantir des produits de santé conformes aux normes requises, en particulier les médicaments stériles (injectables et ophtalmiques) et ceux à faible charge microbienne (nasale) [3]. Une contamination particulière, chimique, microbiologique, ou croisée peut amener à altérer la conformité des matières premières et les produits fabriqués et, pouvant même entraîner des effets néfastes sur la santé des patients [4].

Dans ce contexte, les Bonnes Pratiques de Fabrication ont montré la démarche à suivre afin de limiter les contaminations à un degré moindre, notamment l'annexe 1 qui a connue une révision en 2022, entrée en vigueur le 14 Juin 2024 et traitant de la fabrication des médicaments stériles visant à renforcer la maîtrise des risques de contamination particulière, microbienne, et pyrogénique [5].

Cette révision intègre de nombreuses améliorations technologiques et réglementaires avec des sections détaillant le renforcement des exigences pour certaines technologies émergentes (barrières RABS (système barrière à accès restreints)/Isolateurs), la surveillance de l'environnement en temps réel, en mettant notamment l'accent sur une approche fondée sur le risque (QRM) définie dans les lignes directrices ICH Q9 et ICH Q10 [6,7] et l'élaboration d'une stratégie globale de contrôle de la contamination (Contamination Control Strategy – CCS), intégrant la validation de nettoyage comme point d'ancrage de ce système.

Le nettoyage en industrie pharmaceutique est devenu une phase critique pour la validation d'un procédé de fabrication de médicaments, face à un

cadre réglementaire de plus en plus rigoureux, il est passé d'une simple opération de maintien de la propreté vers un procédé dont la validation est obligatoirement documentée, mais également maintenue tout au long de la fabrication du produit, dans un désir de maîtrise constante des risques de contamination, en particulier dans le cas de production multiproduits [8]. Ce nettoyage passe par des études scientifiques assurant l'élimination de tous les résidus de principes actifs, et d'excipients issus du lot de fabrication précédent ainsi que les agents de nettoyage et contaminants microbiologiques (y compris les endotoxines pour les formes injectables) [9].

La stratégie de contrôle de contamination objective à porter la maîtrise de la contamination à son paroxysme, en prenant compte tous les paramètres source de variabilités dans le processus de fabrication, en particulier pour les produits stériles. Elle repose sur une cartographie des processus de fabrication et analyse de risque mais aussi répondre aux exigences réglementaires imposées par l'annexe 1 des BPF 2024 [5]. Ainsi la méthode de validation de nettoyage s'imbrique avec cette stratégie, validée par l'industrie pharmaceutique.

L'un des éléments majeurs de cette validation : l'exposition journalière admissible (Permitted Daily Exposure - PDE) définie selon la ligne directrice EMA (European Medicines Agency) comme la dose spécifique à la substance qui est peu susceptible de provoquer un effet néfaste si un individu est exposé à cette dose tous les jours pendant toute une durée de vie [10]. Cette évolution vise à abandonner les seuils standards admis (10 ppm, 1/1000ème de la dose minimale thérapeutique) qui étaient jugés trop rigide, ou tolérant selon les substances, et en surcroît, ils ne tenaient pas compte des données toxicologiques et pharmacocinétiques spécifiques du principe actif [11]. L'application de cette approche exige une connaissance sans faille de tous les paramètres physico-chimiques, toxicologiques, et pharmacologiques de la substance en question, ce qui donne un défi hors-norme à relever aux industries pharmaceutiques tant la maîtrise de cette approche est complexe.

Pour parler d'une validation de nettoyage robuste, il est impératif d'user de méthodes analytiques sûres. En industrie pharmaceutique, le développement d'une méthode analytique passe obligatoirement par la détermination parmi la liste de produits prévus pour la fabrication d'un worst

case ou pire cas, c'est-à-dire la substance active la plus difficilement nettoyable [12], puis s'assurer que cette méthode atteigne les limites de détection (LOD) et les limites de quantification (LOQ) exigées [13].

La validation du nettoyage est en général attendue sur trois cycles consécutifs au minimum, ainsi pour s'assurer de la reproductibilité du procédé de nettoyage [8].

L'échantillonnage se fait le plus souvent par écouvillonnage (Swabbing) ou par eau de rinçage (rinsing) ciblant les zones les plus critiques identifiées préalablement par une analyse de risque (QRM) [6]. L'écouvillonnage est la technique préconisée au niveau des zones les plus difficiles à nettoyer tel que les joints, raccords, vannes, ou buses de pulvérisation, et le rinçage est beaucoup plus utilisé pour avoir une vision globale notamment dans les systèmes fermés [14].

L'annexe 1 des bonnes pratiques de fabrication révisée, met en exergue l'importance d'une documentation renforcée. Toutes les étapes de la validation doivent être enregistrées, et dans la mesure du possible intégrées dans un système qualité électronique [5]. En effet, la digitalisation (Data Integrity) est vivement encouragée afin d'améliorer l'efficacité, la qualité, la traçabilité et l'innovation [15].

Cette traçabilité permet de mettre en place un système de revalidation périodique en s'appuyant sur un historique de données fiables. Elle permet aussi de suivre les écarts et d'identifier les actions correctives associées permettant la revalidation du procédé de nettoyage.

La documentation est exigée par les autorités afin d'assurer la conformité réglementaire et la sécurité du patient.

Outre leur contribution dans l'évolution de la traçabilité, les technologies avancées permettent de réduire les erreurs humaines telles que la standardisation des procédures, la saisie des données critiques (température, pression, débit...etc). De plus elles permettent une approche prédictive et d'analyse structurée (Big Data, IA) de la validation, par exemple : la simulation de cycles de nettoyage CIP (Clean In Place), en mettant en avant les flux, les paramètres et zones critiques. On passe d'une approche réactive à une approche prédictive du risque [16].

PROBLEMATIQUE ET OBJECTIF :

Avec l'émergence d'une exigence réglementaire plus stricte, les industries pharmaceutiques doivent redoubler d'effort afin de se conformer à cette dernière. Cette étude a pour objectif de démontrer la conformité de la ligne de production stérile de PROFAM SPA aux exigences de l'annexe 1 des BPF européenne 2024 tout en respectant la mise en œuvre d'une stratégie de contrôle de contamination appliquée en validation de nettoyage.

II\ Matériel et méthode :

1. Matériel :

1.1. Matières premières [17]:

Les produits objet de notre travail sont en cours de développement par l'établissement pharmaceutique PROFAM SPA. Pour des raisons de confidentialité, leurs noms ne sont pas cités, néanmoins nous fournissons dans le tableau I leurs propriétés physicochimiques, et leurs classes thérapeutiques.

Tableau I : Gamme de produit de l'étude, la classe thérapeutique et leur solubilité [17]


Principe actif	Classe thérapeutique	Solubilité dans l'eau (pharmacopée européenne)
Produit A	Glucocorticoïde, activité anti-inflammatoire	Pratiquement insoluble.
Produit B	Corticoïde, activité anti-inflammatoire	Pratiquement insoluble.
Produit C	Glucocorticoïde, activité anti-inflammatoire	Pratiquement insoluble.
Produit D	Glucocorticoïde, activité anti-inflammatoire	Pratiquement insoluble.
Produit E	Glucocorticoïde, activité anti-inflammatoire	Pratiquement insoluble.

1.2. Ecouvillons :

1.2.a. Prélèvement physico chimique :

Tableau II : écouvillon utilisé pour le prélèvement physico-chimique [18].


Ecouvillons	Dimension	provenance
CleanTips® Swabs TX 714A, model Large Alpha® Swab. Matériaux Polyester	Largeur de la tête : 12,7 mm. Largeur du manche : 5,2 mm. Longueur de la tête : 25,7 mm. Longueur du manche : 101,8 mm. Longueur totale : 127,5 mm	ITW Texwipe Philippines.



1.2.b. Prélèvement microbiologique :

Tableau III : Ecouvillon utilisé pour le prélèvement microbiologique [18].

Ecouvillon	Dimension	provenance
Ecouvillon avec tube, stérile	Ø 13 x 165 mm	Deltalab



1-3. Détergents :

Tableau IV : Détergents utilisés [19].

Détergent	Concentration (V/V)	Composition
Détergent 1	2%	Ammonium quaternaire à pH acide
Détergent 2	2%	Ammonium quaternaire à pH alcalin

1.4. Appareillage de contrôle qualité :

Tableau V : Appareillage utilisé [19].

Désignation	Marque	Usage
HPLC	Waters, Alliance-Détecteur UV	Dosage
Hotte à flux laminaire	Telstar	Atmosphère stérile
Etuve de stérilisation	Binder	Stérilisation de matériel
Vitek-2 compact	Biomerieux industry	Identification des bactéries
COT-mètre	Shimadzu	Concentration de carbone organique total
Purificateur d'eau	Human corporation	Eau purifiée
pH-mètre	Metler Toledo	Mesure du pH

2. méthode

A : Stratégie de contrôle de contamination

1. Organisation des zones de production

Les locaux sont classés selon les normes du guide des BPF 2024 [5] comme indiqué dans le Tableau VI :

Tableau VI : Classification des Zones à Atmosphère Contrôlée.

Classe	Nombre maximal autorisé de particules d'une taille supérieure ou égale à 0.5µm		
	Au repos (par m ³)	En activité (par m ³)	Classification ISO (au repos/en activité)
A	3 520	3 520	5/5
B	3 520	352 000	5/7
C	352 000	3 520 000	7/8
D	3 520 000	Non défini	8

- Classe A : Pour les opérations critiques (remplissage sous isolateur, pesée sous flux laminaire).
- Classe C : un environnement de soutien autour des postes critiques.
- Classe D : Pour les opérations moins critiques (pesée, préparation, conditionnement secondaire).
- Classe Non Contrôlée (CNC) : zones annexes (bureaux, vestiaires, zones techniques).

La figure 01, illustre les différentes classes des zones à atmosphère contrôlée au sein de la ligne de fabrication des formes liquides stériles de PROFAM SPA [20].



Figure 01 : Schéma représentatif des différentes zones classées [20].

2. Equipements de la ligne de production

La ligne de production comprend les équipements suivants, conçus pour limiter la contamination :

- Cuves de préparation (20 L et 500 L).
- Cuves de stockage (500 L) permettant le stockage aseptique des solutions.
- Manifold et tuyauteries fermées pour le transfert sécurisé des solutions.
- Injecteurs et tiges d'agitation pour l'homogénéisation des mélanges.
- Remplisseuse automatique sous isolateur de classe A.
- Autoclaves et passe-box actifs et passifs pour le transfert sécurisé entre zones.

3. Système de traitement d'air et gestion des gaz

- Centrale de Traitement d'Air (CTA) avec filtration progressive : G4, F7, F9, HEPA H14 avec $\geq 99,995\%$ d'efficacité pour les particules $\geq 0,3 \mu\text{m}$.
- Débits d'air : 25 renouvellements/heure en classe C, 15 en D ; vitesse de 0,36–0,54 m/s en classe A.
- Surpression inter-zones : $\geq 7,5 \text{ Pa}$ pour éviter la contamination croisée.
- Contrôle des gaz techniques : air comprimé et azote (pureté $\geq 99,95\%$), test de présence d'huile (point de rosée), contrôle particulière et microbiologique.

4. Gestion des flux de personnes, matières et matériels

- Contrôle d'accès biométrique par empreinte digitale pour le personnel habilité.
- Sas d'entrée/sortie physiquement séparés avec procédures de gowning (habillage) adaptées.

- Parcours séparés pour les matières premières, composants et équipements, avec nettoyage/désinfection systématiques.
- Passe-box actifs (décontamination UV/fumigation) et passifs pour transfert sécurisé.

Des schémas des flux de personnes et de matières sont annexés pour visualiser l'organisation spatiale. (Figure 02 ; Figure 03) [20].

5. Protocoles de nettoyage et désinfection

5.1. Produits et matériels utilisés :

- Détergents spécifiques compatibles avec l'acier inoxydable.
- Désinfectants à base de peroxyde d'hydrogène (0,5 %)
- Eau purifiée pour rinçage final.

5.2. Procédures :

- Cuve de 20 L : nettoyage manuel.
- Cuves de 500 L et circuits : nettoyage automatique CIP / SIP

6. Surveillance environnementale

6.1. Surveillance particulière et microbiologique

- Impacteur d'air pour prélèvement d'air actif (1000 L/10min).
- Boîtes de sédimentation pour prélèvement passif (exposition 4 h).
- Écouvillons stériles et plaques de contact pour prélèvements de surface.
- Incubateurs à $32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (bactéries) et $22,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (moisissures).
- Identification microbienne : automate VITEK 2 Compact.

6.2. Fréquence

- Zones A et C : surveillance quotidienne ou par lot.
- Zones D : surveillance hebdomadaire.

7. Méthodologie détaillée de l'analyse de risque AMDEC appliquée à la stratégie de contrôle de contamination

Étape 1 : Définition du périmètre et des objectifs

- Périmètre : L'analyse porte sur l'ensemble des éléments et processus impliqués dans la maîtrise de la contamination avec

comme objectif identifier, évaluer et hiérarchiser les risques liés à la contamination particulaire et microbiologique afin de définir et valider les mesures de maîtrise mises en place [21].

Étape 2 : Identification des modes de défaillance

- Pour chaque processus, les modes de défaillance potentiels susceptibles d'entraîner une contamination ou un non-respect des exigences qualité sont listés [22].

Étape 3 : Identification des causes et effets

- Pour chaque mode de défaillance, les causes principales ont été déterminées ainsi que les effets potentiels sur la qualité du produit, la sécurité du patient et la conformité réglementaire sont analysés [23].

Étape 4 : Cotation des critères de criticité

Trois critères sont évalués pour chaque mode de défaillance, selon un barème de 1 à 5 [6,24,25]

- Gravité (G) : Impact de la défaillance (1 = négligeable, 5 = critique).
- Fréquence (F) : Probabilité d'occurrence (1 = très rare, 5 = très fréquent).
- Détectabilité (D) : Capacité à détecter la défaillance avant impact (1 = très détectable, 5 = non détectable).

Ces cotations ont été attribuées en s'appuyant sur les données internes, les bonnes pratiques de fabrication, ainsi que les normes ISO.

Étape 5 : Calcul de l'indice de criticité (C)

- Le C est calculé pour chaque mode de défaillance selon la formule :

$$C=G \times F \times D \text{ [21]}$$

- Ce score permet de hiérarchiser les risques et d'identifier ceux nécessitant des actions correctives prioritaires.

Étape 6 : Analyse avant mise en œuvre des mesures

- Une première évaluation est réalisée en considérant les conditions initiales, sans les mesures correctives ni les contrôles renforcés.
- Cette étape a permis de mettre en évidence les risques critiques (C élevés), justifiant la mise en place d'une stratégie complète de maîtrise [6].

Étape 7 : Description des mesures correctives mises en place

Pour chaque risque identifié, les mesures de maîtrise ont été détaillées [5,25,26]:

- Surveillance environnementale active et passive avec identification rapide.
- Mise en place de zones classées selon les BPF et normes ISO.
- Gestion stricte des flux de personnes et matières (contrôle d'accès biométrique).
- Formation continue du personnel.
- Maintenance préventive et tests réguliers des équipements.
- Installation d'une CTA avec filtration HEPA H14 et contrôle des débits et pressions [35].

Ces mesures visent à réduire la fréquence et améliorer la détectabilité des défaillances.

Étape 8 : Analyse après mise en œuvre des mesures

- En intégrant les mesures correctives, la fréquence et la détectabilité sont réévaluées à la baisse, reflétant une meilleure maîtrise des risques [6].

Le C recalculé a permis de vérifier l'efficacité de la stratégie, avec une réduction significative des risques critiques.

Étape 9 : Synthèse des résultats.

- Les résultats sont compilés en vue de démontrer la réduction des risques et la conformité aux exigences réglementaires [27,28].

B. VALIDATION DE NETTOYAGE :

Une méthode de nettoyage se doit d'être reproductible et robuste afin de maintenir une qualité constante [29], et ce par une exécution trois fois consécutivement avec des résultats probants après analyse [12]. Cela permettra aussi d'optimiser les ressources et de réduire les coûts et risques économiques [30]. Il faut initialement rédiger un protocole de validation de nettoyage par l'assurance qualité et définir un produit pire cas (worst case) parmi la liste des substances, ainsi que la dose journalière admissible (PDE) et les limites d'acceptations (ARL) [8].

1. Détermination des pires cas :

L'approche des « pires cas » consiste à choisir l'équipement le plus difficile à nettoyer, ainsi que le produit le plus difficile à éliminer. Son intérêt réside dans la réduction du nombre d'essais à mettre en œuvre lors de la validation du nettoyage.

Si le nettoyage est validé pour le produit worst case dans l'équipement worst case, il sera validé pour tous les autres produits dans tous les autres équipements [31].

Le principe actif du produit chimique est appelé traceur chimique il sera recherché après nettoyage, quant au traceur microbiologique, il concerne la Flore microbienne également recherchée après nettoyage [29].

1.1 Equipement worst case :

Les équipements de fabrication ayant le même usage, forme géométrique et nettoyage sont regroupés afin de réduire la validation de nettoyage, puis on extrait le pire cas selon des critères bien définis [29] :

La nettoyabilité : la difficulté à nettoyer l'équipement, s'il contient des coudes ou angles par exemple.

La surface : représente la surface sur laquelle le risque de rétention de résidus de produits, agent de nettoyage ou contaminants est le plus élevé [32].

1.2. Produit worst case :

1.2.a. Sur le plan physicochimique : le traceur est choisi selon des critères définis :

La nettoyabilité : représente la difficulté de nettoyage du produit, elle est donnée par l'opérateur qui effectue le nettoyage et classée selon un tableau des scores tel qui est indiqué dans le tableau VII [33]:

Tableau VII : Scores de nettoyabilité.

Niveau de nettoyabilité	Description	Score
Facile	Pas de trace de produit sur l'équipement après rinçage final	1
Moyenne	Légères traces du produit sur l'équipement après rinçage final	2
Difficile	Présence de traces de produit sur les zones critiques après rinçage final.	3.
Très difficile	Présence de traces de produit sur une surface importante de l'équipement après rinçage	4

La solubilité : le produit présentant la solubilité la moins élevée est considéré comme pire cas, car c'est celui qui est le plus susceptible de laisser des résidus persistants à la fin de la production.

Ces scores sont définis par la pharmacopée Européenne en vigueur [4] :

Tableau VIII : scores de solubilité.

Critère de solubilité	Score
Très soluble	1
facilement soluble	2
soluble	3
Assez soluble	4
Peu soluble	5
Très peu soluble	6
Pratiquement insoluble	7

La toxicité : représente le produit ayant le plus haut degré de toxicité, elle est également soumise à la règle des scores, établie en fonction des valeurs PDE contrairement à l'ancienne approche basée sur la DL50, on parle aussi d'une échelle de dangerosité [10].

Tableau IX : scores de toxicité.

Niveau de toxicité	Plage indicative de PDE (µg/jour)	Score
Toxicité très faible	≥ 10000	1
Toxicité faible	[1000-10000[2
Toxicité modérée	[100-1000[3
Toxicité modérément élevée	[10-100[4
Toxicité élevée]1.5-10[5
Toxicité très élevée	≤1.5	6

Le choix du produit worst case est fait selon une méthode quantitative, on multiplie les scores obtenus pour chaque paramètre de choix ; le produit pire cas correspond à celui ayant le score le plus élevé, c'est-à-dire le produit le plus toxique, le moins soluble et le plus difficile à nettoyer [33].

Remarque :

En cas de non fabrication du produit pire cas en premier, le nettoyage peut être validé sur un produit ayant un score immédiatement inférieur (pire cas de deuxième catégorie) dans l'attente de la fabrication du produit pire cas et pour lequel le nettoyage sera validé [8].

1.2.b. Sur le plan microbiologique :

La ligne de production est conçue et aménagée conformément aux exigences strictes applicables à la fabrication de produits stériles, avec des équipements, un environnement contrôlé et des procédures adaptées pour garantir la stérilité des produits finis. Cependant, les produits actuellement fabriqués sur cette ligne ne sont pas obligatoirement stériles (forme liquide à usage nasal).

Par conséquent, bien que la ligne soit capable de produire dans des conditions aseptiques, il est impératif de mettre en place un contrôle microbiologique rigoureux adapté à la nature non stérile de ces produits (DGAT, DMLT, E.coli, P.aeruginosa) [31].

Tableau X : Scores de DGAT

Echelle DGAT	Coefficient attribué
$DGAT \leq 10^1$	1
$10^1 < DGAT \leq 10^2$	2
$10^2 < DGAT \leq 10^3$	3
$DGAT > 10^4$	4

La nettoyabilité : les scores de nettoyabilité établis sont identiques aux scores fixés pour la détermination du traceur physicochimique [33].

La présence d'activité antimicrobienne :

Les agents antimicrobiens (conservateurs) dans les formulations nasales ont pour rôle d'inhiber la prolifération microbienne et d'assurer la stabilité microbiologique du produit durant son usage. L'absence d'agent antimicrobien augmente le risque de contamination et de prolifération microbienne, justifiant un coefficient plus élevé [31].

Tableau XII : Scores d'activité antimicrobienne

Présence d'agent(s) antimicrobien(s)	Score	Interprétation
Contient plusieurs antimicrobiens	1	Risque moindre de contamination
Un seul agent antimicrobien	2	Protection antimicrobienne modérée
Ne contient pas d'antimicrobien	3	Contamination et prolifération élevée

Le score pour la détermination du traceur microbiologique est ensuite calculé selon la formule [35] :

$$\text{Score} = (\text{Indice DGAT} + \text{Indice DMLT}) \times \text{Indice de nettoyabilité} \times \text{Indice d'activité antimicrobienne.}$$

Le traceur est choisi selon :

Un dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT), ainsi qu'un dénombrement des moisissures et levures totales (DMLT) et une recherche de micro-organismes pathogènes (E.coli, P.aeruginosa) sont effectués par des prélèvements par eau de rinçage et par écouvillonnage [31], indiqué dans les tableaux X, XI.

Tableau XI : Scores de DMLT

Echelle DMLT	Coefficient attribué
$DMLT \leq 10^1$	1
$10^1 < DMLT \leq 10^2$	2
$DMLT > 10^2$	3

2-DETERMINATION DE LA DOSE JOURNALIERE ADMISSIBLE (PDE) :

La valeur de PDE est calculée à partir de données toxicologiques, pharmacologiques en s'appuyant sur des recherches scientifiques et sources bibliographiques [35].

Etapes du protocole de calcul :

2.1. Collecte de données liées à la dangerosité de la substance : ça passe par l'identification des effets critiques observés sur le modèle animal (le chien dans le cas de notre étude).

2.2. Collecte des données de toxicologie : obtenues après de multiples essais sur des animaux de laboratoire, et ces résultats peuvent varier d'un toxicologue à un autre selon les conditions de l'étude :

Dose sans effet observé (NOEL=No Observed Effect Level)

Dose sans effet nocif observé (NOAEL=No Observed Adverse Effect Level)

Dose minimale avec effet nocif observé (LOAEL= Lowest Observed Adverse Effect Level)

2.3. Application des facteurs d'ajustements : Ces facteurs sont intégrés dans la formule de calcul pour tenir compte des incertitudes dans l'extrapolation des données obtenues sur l'animal à l'homme :

F1 : facteur de conversion inter-espèces.

Pour les besoins de notre étude F1 = 2 concernant l'extrapolation des données sur le chien aux hommes.

F2 : facteur de variabilité entre individus.

Ce facteur est déterminé conventionnellement à 10 pour exprimer cette variabilité.

F3 : Durée d'exposition

Facteur ajustant la valeur de référence selon la durée d'exposition chez les animaux de laboratoires

F3 = 1 : étude de longue durée (≥ 1 an chez les rongeurs, ≥ 7 ans chez les non-rongeurs) ou couvrant l'organogénèse complète.

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

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

F3 = 10 : pour les études dont la durée est plus courte.

F4 : Gravité de l'effet toxique

Ce facteur peut avoir des valeurs variables allant de 1 à 10 selon l'effet induit dans l'étude :

- Effet léger réversible.
- Effet grave mais non létale.
- Effet est grave et létale.

F5 : Fiabilité des données disponibles

F5 = 1 : si NOAEL est disponible.

F5 = 3 à 10 : si LOAEL est utilisé (selon l'incertitude).

Formule générale :

$$PDE = \frac{NOAEL \times \text{Poids corporel}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$$

Le poids corporel est une valeur standard représentative du poids de l'homme et qui est de 50kg.

Afin de calculer la valeur de PDE, il faut prendre en compte la voie d'administration et sa biodisponibilité. En effet, la PDE est calculée avec une approche prudente (conservatrice), qui permettra de minimiser le risque sur la santé humaine, ainsi on prendra une valeur de biodisponibilité la plus élevée (100%) qu'on va ensuite ajuster sur la voie d'administration de notre produit pire cas (Dans ce cas la voie nasal).

2.4. Détermination de la voie d'administration :

3. Critères et limites d'acceptation :

Une méthode de nettoyage ne sera validée qu'après avoir effectué le nettoyage trois fois successivement, après trois sessions de fabrication, donnant des résultats concluants [35].

3.1. Critères d'acceptation physicochimique :

3.1.a. Aspect visuel des équipements : à l'œil nu, l'opérateur doit vérifier l'absence de traces sur l'équipement, coloration ou souillures.

3.1.b. Aspect visuel des prélèvements : les écouvillons doivent avoir un aspect propre après utilisation, et les eaux de rinçage exemptes de toute contamination visible à l'œil nu.

3.2. Limites d'acceptation ARL (traces de principes actifs) : Cela correspond à la limite maximale de résidu acceptable (ARL= Acceptable Residual Limit) sur un équipement de production restant après nettoyage pour un produit contaminant [35]. Elle est calculée suite à un prélèvement par écouvillonnage, et un prélèvement par eau de rinçage :

3.2.a. Pour le prélèvement par écouvillonnage :

$$ARL_{\mu\text{g}/\text{écouvillon}} = \frac{PDE_A \times L_B \times A_S \times 10^6}{T_b \times E_W}$$

T_b (g) : Dose thérapeutique journalière maximale du produit suivant.

L_b (Kg) : Plus petite taille de lot du produit suivant.

A_s (m²) : Surface prélevée.

E_w (m²) : Surface maximale de contact.

PDE_a (mg/jour) : La plus faible valeur des PDE.

3.2.b. Pour le prélèvement par eau de rinçage :

$$ARL_{\mu\text{g}/\text{ml}} = \frac{PDE_a \times L_b \times 10^3}{\text{Volume de solvant} \times T_b}$$

Les quantités résiduelles du traceur dans les équipements de production doivent être inférieures aux limites d'acceptation (ARL).

3.3. Critères d'acceptation microbiologique :

Tableau XIII : Limite d'acceptation microbiologique

Paramètre microbiologique	Limite d'acceptation		Unité
	Prélèvement par écouvillonnage	Prélèvement par eau de rinçage	
Dénombrement des Germes Aérobieux Totaux (DGAT)	≤ 10 ²	≤ 10 ⁴	UFC/100cm ²
Dénombrement des Levures et Moisissures Totales (DMLT)	≤ 10 ²	≤ 10 ⁴	UFC/100cm ²
Escherichia coli	Absence		dans 1 g ou 1 ml
Pseudomonas aeruginosa	Absence		dans 1 g ou 1 ml

4. Reproductibilité du procédé de nettoyage :

Pour valider notre méthode de nettoyage il faut effectuer trois nettoyages après la fabrication de trois lots du produit choisi comme worst case, tout en veillant à respecter les mêmes conditions pour les trois opérations (même procédure de nettoyage et de prélèvement).

Dans le cas du nettoyage manuel (cas des cuves 20 L par exemple), il est souhaitable que la mise en œuvre du procédé de nettoyage sur les trois lots de produit, se fasse par trois opérateurs différents [35].

5. Validation analytique des méthodes de recherche des traces

La méthode analytique utilisée dans le cadre de la validation de nettoyage pour la recherche de traces de principe actif a fait l'objet d'une validation analytique selon la procédure SFSTP étant donné sa non-standardisation [36].

Les paramètres étudiés au cours de cette validation sont les suivants :

5.1. Conformité du système chromatographique (Suitability system) :

Elle est démontrée en injectant 5 fois la solution standard 100% de la limite d'acceptation (ARL fixé pour la validation de nettoyage).

Critères d'acceptation :

- le % RSD pour les 5 injections doit être inférieur ou égale à 2.0%.

- le nombre de plateaux théoriques doit être déterminé lors de la validation analytique.

- le facteur de symétrie doit être compris entre 0.8 et 1.5.

5.2. Linéarité de la réponse sur standard :

La linéarité est démontrée en préparant des solutions standards de PA au minimum entre 10% et 250%. Ces solutions seront injectées 5 fois chacune.

Critère d'acceptation :

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

5.3. Fidélité : Répétabilité et fidélité intermédiaire

5.3.a. Répétabilité : L'étude de la répétabilité est réalisée par le même opérateur et en utilisant le même équipement. La préparation et l'analyse d'une solution plaque 100% sont refaites 6 fois et le taux de recouvrement sera calculé.

Le **taux de recouvrement** est le pourcentage de résidu récupéré sur une surface connue (dans notre cas une plaque de 10 cm x 10 cm) après dépôt d'une quantité précise de principe actif.

$$\text{taux de recouvrement (\%)} = \left(\frac{\text{Quantité retrouvée}}{\text{Quantité déposée}} \right) \times 100$$

Critères d'acceptation : Le RSD des taux de recouvrement du PA doit être inférieur ou égal à 5% .

5.3.b. Fidélité intermédiaire : Validation de la méthode de prélèvement par la détermination du taux de recouvrement par écouvillonnage sur trois niveaux de concentration (50%, 100%, 150%) sur trois jours successifs.

Tableau XIV : Elément figurant dans le protocole de détermination du taux de recouvrement.

Élément	Description
Surface testée	Plaque inox de 100 cm ²
Substance déposée	Principe actif
Méthode de dépôt	Application de solution standardisée, séchage complet
Nombre de répliques	3 répétitions par niveau de concentration
Niveaux testés	Haut (150%), moyen (100%) et bas (50%)
Technique de prélèvement	Écouvillon préalablement humidifié
Analyse	HPLC
Acceptabilité	Taux de recouvrement ≥ 70 %

5.4. Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ) :

La détermination de LOD et LOQ se fait à partir de la gamme d'étalonnage de la linéarité sur standard et tracer la droite de régression des Hauteurs du pic du PA en fonction de la concentration [47] exprimée en $\mu\text{g/ml}$.

Critère d'acceptation :

La LOD et la LOQ doivent être en adéquation avec la limite d'acceptation fixée pour la validation de nettoyage ARL.

LOQ < ARL

6. Plan de prélèvement des équipements.

Identification des zones critiques :

Avant l'élaboration du plan de prélèvement définitif, une analyse de risque a été effectuée [37].

6.1. Critères de sélection des points critiques

Les points sont sélectionnés selon les critères suivants :

- **Accessibilité** (zones difficiles à atteindre ou à démonter).
- **Configuration géométrique** (zones à angles morts, coudes, joints, soudures).
- **Contact direct avec le produit** (zones de passage, agitation, stockage).
- **Historique de nettoyage difficile ou déviation.**
- **Changement fréquent de produit ou de lots.**
- **Matériau sensible à l'adsorption** (ex. : inox vs polymères).

- **Zones en fin de circuit** (manifold, injecteurs).

Les points critiques ont été confirmés par un essai de traçabilité par riboflavine qui a été mené afin d'identifier objectivement les zones les plus difficiles à nettoyer sur la ligne de production. La riboflavine (vitamine B2), utilisée ici comme traceur fluorescent hydrosoluble, a été pulvérisée de manière homogène sur l'ensemble des surfaces en contact du produit, puis soumise au cycle de nettoyage standard de la ligne [19,37].

L'inspection a été effectuée sous lumière ultraviolette (UV à 365 nm) dans un environnement obscurci afin de visualiser les

résidus persistants. Cette méthode non destructive permet de localiser de manière fiable les zones présentant une accumulation ou une rétention potentielle de contaminants.

Les points critiques et les méthodes de prélèvement associées sont résumés dans le tableau XV.

Tableau XV : Plan de prélèvement lors de la validation de nettoyage des équipements de la ligne de production.

Equipement	Point critique	Type de prélèvement			
		Physico-chimique		Microbiologique	
		Eaux de rinçage	Écouvillonnage	Eaux de rinçage	Écouvillonnage
Cuve 20L	Couvercle cuve	NA	X	NA	X
	Surface interne	X	X	X	X
	Tuyau J	X	X	X	X
	Vanne de produit	NA	X	NA	X
	Tube produit	X	X	X	X
Flexible de transfert	Flexible de transfert	X	X	X	X
Tige d'agitation	Tige d'agitation	NA	X	NA	X
Cuve 500L préparation	Surface interne	NA	X	NA	X
	Point d'échantillonnage	X	NA	X	NA
	Carter filtre	X	X	X	X
Cuve 500L stockage	Surface interne	NA	X	NA	X
	Point d'échantillonnage	X	NA	X	NA
	Carter filter	X	X	X	X
	Fin de ligne	NA	X	NA	X
Cuve tampon	Cuve tampon	X	X	X	X
	Couvert cuve	NA	X	NA	X
Manifold	Surface interne	X	X	X	X
Flexible de remplissage	Flexible de remplissage	X	NA	X	NA
Injecteur de produit	Injecteur de produit	X	NA	X	NA
Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Surface interne	NA	X	NA	X
Coude	Surface interne	X	X	X	X

III. RESULTATS :

A. Stratégie de contrôle de contamination :

À la suite de l'intégration des exigences de l'Annexe 1 (version 2024) [5], une stratégie de contrôle de la contamination est rédigée et mise en œuvre sur la ligne de production stérile dédiée aux glucocorticoïdes à usage nasal. La collecte sur le terrain des données, les audits internes, les analyses de flux ainsi que la revue documentaire ont permis d'estimer l'efficacité des actions mises en œuvre [38].

1. Apport de l'analyse de risque AMDEC pour la stratégie de contrôle de contamination :

Au titre de la mise en œuvre de la Stratégie de Contrôle de la Contamination (CCS) sur le site de production stérile, une analyse de risque systématique type AMDEC (Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur Criticité) [6] a été effectuée. Elle a permis d'estimer et de hiérarchiser les modes de défaillance potentielles pouvant entraîner une contamination d'un produit ou de son environnement de production.

L'analyse comprend tous les éléments clés du système de contrôle de la contamination, y compris les zones classées, les circuits d'air, les appareils de surveillance, les appareils de traitement d'air, les circuits de transfert, et le facteur humain [21].

2. Synthèse des résultats AMDEC avant et après mesures correctives : Le tableau XVI représente un extrait représentatif de l'analyse complète, mettant en évidence quelques étapes critiques identifiées. L'ensemble du tableau AMDEC détaillé est disponible en Annexe [37]:

Tableau XVI : Extrait représentatif de l'analyse AMDEC

Élément / Processus	Mode de défaillance	Cause principale	Effet potentiel	C avant				Mesures correctives mises en place	C après			
				G	F	D	C		G	F	D	C
Système de traitement d'air (CTA)	Flux d'air inadéquat, filtration insuffisante	Défaut filtration, défaillance CTA, mauvais réglage débits	Contamination particulaire et microbiologique	5	4	4	80	Filtration en cascade G4-F7-F9-H14, contrôle pression >7,5 Pa, renouvellement d'air adapté (25x/h classe C, 15x/h classe D)	1	2	2	4
Surveillance particulaire (actif/passif)	Non détection contamination particulaire	Fréquence insuffisante, équipement défectueux	Contamination non détectée, risque patient	5	3	4	60	Échantillonnage actif par pompes, passif par sédimentation, fréquence adaptée	2	1	2	4
Surveillance microbiologique	Retard ou absence de détection microbienne	Fréquence faible, méthodes inadéquates, identification lente	Contamination non détectée, risque pour la stérilité	5	3	4	60	Prélèvements sur TSA toutes les 4h, incubation BGAT et moisissures, identification rapide API et VITEK 2	5	1	2	10
Gestion des flux de personnes	Contamination croisée par personnel	Circulation non contrôlée, accès libre	Contamination produit, risque patient	5	4	4	80	Accès biométrique par empreinte digitale, sas d'entrée/sortie séparés, parcours définis, gowning strict	1	2	2	4
Renouvellement d'air insuffisant	Accumulation particules et microbes	CTA mal dimensionné, défaillance ventilation	Contamination produit, non-respect normes	5	3	4	60	Débits adaptés : 25 renouvellements/h classe C, 15 renouvellements/h classe D, contrôle continu des débits	2	1	2	4

B. Validation de nettoyage :

1. Equipement worst case :

Tableau XVII : Regroupement et choix des équipements pires cas [29].

Groupes	Equipements	Equipement pire cas
Groupe 01	Cuve de préparation (500L), cuve de stockage (500 L).	Cuve 500L Stockage
Groupe 02	Cuve mobile 20L/50L/ cuve tampon	Cuve 50 L
Groupe 03	Les flexibles de transfert + les flexible de remplissage	Les flexible de remplissage
Groupe 04	Tige d'agitation	Tige d'agitation
Groupe 05	Manifold + raccord des flexible de remplissage	Flexible de remplissage
Groupe 06	Injecteur	Injecteur

2. Produit worst case :

2.1. Traceur physicochimique :

Tableau XVIII : scores du traceur physicochimique [34]

Produit	Solubilité dans l'eau	Nettoyabilité	Toxicité (PDE)	Score
Produit A	7	2	6	84
Produit B	7	4	5	140
Produit C	7	3	5	105
Produit D	7	3	4	84
Produit E	7	3	4	84

Les valeurs de PDE calculées, ont montré des indices scores présentés dans le tableau XVIII.

Les résultats ont été confortés par l'établissement PROFAM.

2.2. Traceur microbiologique :

Tableau XIX : scores du traceur microbiologique [25].

Produit	Limite d'acceptation	Activité antimicrobienne	Nettoyabilité	Score
Produit A	2	2	2	8
Produit B	2	3	4	24
Produit C	2	3	3	18
Produit D	2	3	3	18
Produit E	2	3	3	18

Le produit B ayant la limite d'acceptation la moins stricte, l'activité antimicrobienne la plus faible ainsi que le nettoyage le plus difficile, est

choisi comme traceur microbiologique pour la validation de nettoyage [25,37].

3. Critères d'acceptation :

3.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physicochimique :

Parmi la gamme de produit fabriqué sur cette ligne de production, le produit A est celui ayant la toxicité la plus élevée (PDE la plus faible), donc

celui avec lequel la limite d'acceptation sera déterminé [29,37] :

Le tableau XX présenté sous forme de fiche signalétique concernant le produit A, résume les caractéristiques physico-chimiques, toxicologiques, ainsi que sa dangerosité.

Tableau XX : Caractéristiques physicochimiques, toxicologiques et méthodologie de calcul de la valeur de PDE.

Présentation du produit		
Nom	Produit A	
Forme galénique et dosage	Suspension pour pulvérisation nasale à 64µg/dose	
Ligne de fabrication	Nasale	
Données physico-chimiques		
Aspect	Poudre cristalline blanche à blanc cassé	Pharmacopée européenne 11ème édition
Solubilité dans l'eau	Très faible	PubChem CID
Solubilité dans l'alcool	Soluble dans l'éthanol	PubChem CID
Volatilité	Non volatile	EMA
Stabilité	Stable en conditions normales (température ambiante, à l'abri de la lumière)	EMA
Classe thérapeutique : Glucocorticoïde.		
Données toxicologiques (toxicité aiguë)		
Espèce animale	Rats (orale)	PubChem, 2024
DL50	>3200 mg/kg	
Données toxicologiques (toxicité à doses répétées)		
Espèce animale	Chien (orale)	Pharmacology Review 2021, Other Review 2019
Effets observés	Effets hépatocellulaires	
Valeur NOAEL	1.6 µg/kg/jour	
Dangerosité		
Mutagénicité	Non	Pharmacology Review 2001.
Tératogénicité	Toxicité fœtal	
Pouvoir sensibilisant	Non	
Facteurs de sécurité et calcul de la PDE		
F1 : Conversion inter-espèces	F1 = 2 Basée sur les études faites sur le chien	
F2 : Variabilité inter-individuelle	F2 = 10 Valeur conventionnelle prenant en compte la différence entre individus de la population humaine.	
F3 : Durée d'exposition	F3 = 10 Basée sur la durée de l'étude (ICH S4).	
F4 : Gravité de l'effet	F4 = 2 Effet léger réversible.	
F5 : valeur toxicologique utilisée	F5 = 1 Sélection de la valeur de NOAEL.	
Calcul de la PDE	$PDE = \frac{NOAEL \times \text{Poids corporel}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$ $PDE = \frac{1.6 \times 50}{2 \times 10 \times 10 \times 2 \times 1}$	
	PDE = 0.0002 mg/jour = 0.2 µg/jour	

Calcul des limites d'acceptation :

- Pour les prélèvements par écouvillonnage [35] :

$$ARL_{\mu\text{g}/100\text{cm}^2} = \frac{PDE_A \times L_B \times A_S \times 10^6}{T_B \times E_W}$$

$$PDE_{\text{minimale}} \text{ (mg/jour)} = 0.0002 \text{ mg/jour.}$$

T_B (g): Dose journalière admissible du produit suivant B = 0.000512g.

L_B (Kg): Plus petite taille de lot du produit suivant B = 300Kg.

A_S (m²) : Surface prélevée (100 cm² = 0.01 m²).

E_W (m²): Surface maximale de contact 8.58 m²

$$ARL_{\mu\text{g}/100\text{cm}^2} = 136582.1678 \mu\text{g}/100\text{cm}^2$$

- Pour le prélèvement par eau de rinçage :

$$ARL_{\mu\text{g}/\text{ml}} = \frac{PDE_a \times L_b \times 10^3}{\text{Volume de solvant} \times T_b}$$

Volume de solvant = 508L

$$ARL_{\mu\text{g}/\text{ml}} = 230.6840 \mu\text{g}/\text{ml}$$

2-Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique :

Les limites d'acceptation du nombre de microorganismes par unité de surface, ont été établies en interne, en s'appuyant sur les pharmacopées en vigueur (Tableau XXI) :

Tableau XXI : Critères d'acceptation microbiologique.

Paramètre microbiologique	Limite d'acceptation		Résultats
	Prélèvement par écouvillonnage	Prélèvement par eau de rinçage	
Dénombrement des Germes Aérobie Totaux (DGAT)	$\leq 10^2$ UFC/100cm ²	$\leq 10^4$ UFC/100cm ²	Conforme
Dénombrement des Levures et Moisissures Totales (DMLT)	$\leq 10^2$ UFC/100cm ²	$\leq 10^4$ UFC/100cm ²	Conforme
Escherichia coli	Absence		Conforme
Pseudomonas aeruginosa	Absence		Conforme

4. Validation analytique de la méthode de recherche de traces par écouvillonnage :

4.1. Conformité du système chromatographique :

Les résultats obtenus sont décrits dans les tableaux ci-dessous :

Tableau XXII : RSD des aires de pic du produit B.

Injection N°	Aire de pic du produit B
1	747257
2	748451
3	749148
4	748646
5	748988
Moyenne des aires de pics	748498
Ecart type	746
%RSD	0.1%

Tableau XXIII : Nombre de plateaux théoriques et facteur d'asymétrie du pic du produit B.

Paramètre	Résultat
Nombre de plateaux théoriques	8110
As	1.2

4.2. Linéarité :

Tableau XXIV : linéarité de recherche de traces du produit B.

Niveau de linéarité	Concentration du produit B en µg/ml	Aire de pic du produit B (Moyenne par concentration)
10%	1.00	85516
25%	2.50	193155
50%	5.00	372926
100%	10.00	752700
150%	15.00	1121814
250%	25.00	1867404

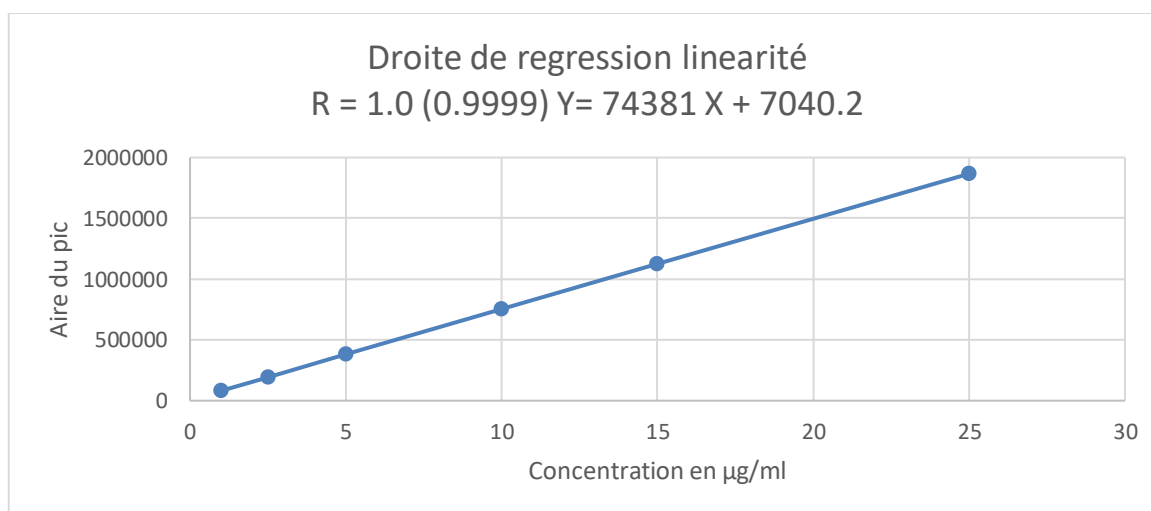


Figure (04) : Droite de régression des aires de pic en fonction des concentrations du produit B.

Coefficient de corrélation $R = 1.0 (0.9999)$.

4.3. Fidélité :

4.3.a. Répétabilité :

Tableau XXV : Répétabilité.

Solution plaque 100% (répétition)	Concentration du produit B déposé (solution standard 100%)	Concentration du produit B retrouvé (solution plaque 100%)	Taux de recouvrement en %
1	10.01	9.14	91
2	10.01	9.01	90
3	10.01	8.77	88
4	10.01	8.88	89
5	10.01	8.99	90
6	10.01	8.98	90
		Moyenne	90
		Ecart type	1.3
		RSD%	1.4

4.3.b. Taux de recouvrement :

Tableau XXVI : Calcul de taux de recouvrement.

Concentration en %	Taux de recouvrement en %	
	Rendements obtenus	
50%	Jour 1	91.2
	Jour 2	91.9
	Jour 3	91.9
	Moyenne de trois jours	91.7
	Ecart type	0.4
	RSD	0.4
100%	Jour 1	90.4
	Jour 2	92.4
	Jour 3	93.0
	Moyenne de trois jours	91.9
	Ecart type	1.4
	RSD	1.5
150%	Jour 1	89.1
	Jour 2	90.4
	Jour 3	93.9
	Moyenne de trois jours	91.9
	Ecart type	2.5
	RSD	2.7
Taux de recouvrement		92%

4.4. Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ) :

Tableau XXVII : Concentrations et hauteurs de pic du produit B.

Niveau de linéarité	Concentration de produit B en µg/ml	Hauteur de pic du produit B (la moyenne par concentration)
10%	1.00	10478
25%	2.50	23497
50%	5.00	45255
100%	10.00	91357
150%	15.00	136229
250%	25.00	226630

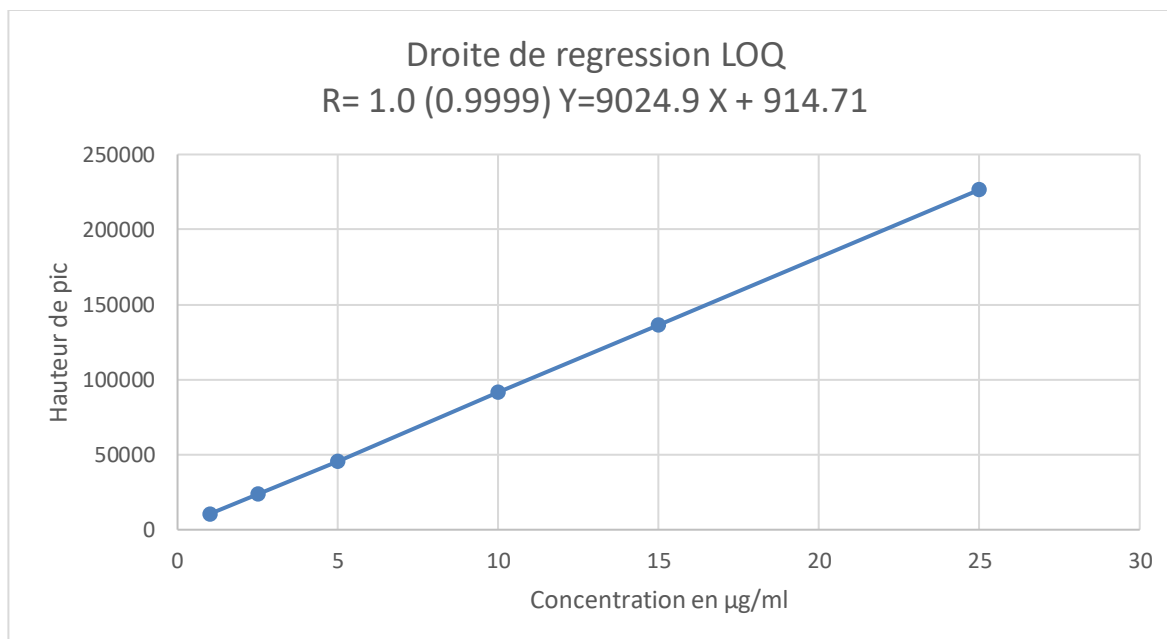


Figure (05) : Droite de régression des hauteurs de pic en fonction de la concentration du produit B

Coefficient de corrélation R= 0.9999

σ_B (l'erreur de l'ordonnée à l'origine) = 118.061258

$$LOD = \frac{3.3\sigma_B}{a} = 0.04\mu\text{g/ml}$$

$$LOQ = \frac{10\sigma_B}{a} = 0.13\mu\text{g/ml}$$

5. Résultats de la validation de nettoyage

Dans le cadre de cette étude, trois lots consécutifs ont été fabriqués selon le protocole établi :

Tableau XXVIII : Résultat de l'analyse physicochimique du lot 001.

Résultat de l'analyse physicochimique – LOT 1						
Equipement	Point critique	Type de prélèvement				Statut
		Eaux de rinçage		Ecouvillonnage		
		Résultats µg/ml	Norme	Résultats µg/100cm ₂	Norme	
Cuve 20L	Couvercle cuve	NA	10µg/ml	<LOD	100µg/100cm ²	Conforme
	Surface interne	ND		<LOD		Conforme
	Tuyau J	ND		ND		Conforme
	Vanne de produit	NA		<LOD		Conforme
	Tube produit	ND		<LOD		Conforme
Flexible de transfert	Flexible de transfert	ND		6.4		Conforme
Tige d'agitation	Tige d'agitation	NA		LOD		Conforme
Cuve 500L préparation	Surface interne	NA		ND		Conforme
	Point d'échantillonnage	ND		NA		Conforme
	Carter filtre	ND		ND		Conforme
Cuve 500L stockage	Surface interne	ND	<LOD	Conforme		
	Point d'échantillonnage	X	NA	Conforme		
	Carter filter	ND	ND	Conforme		
	Fin de ligne	NA	ND	Conforme		
Cuve tampon	Cuve tampon	ND	<LOD	Conforme		
	Couvert cuve	NA	<LOD	Conforme		
Manifold	surface interne	ND	ND	Conforme		
Flexible de remplissage	Flexible de remplissage	ND	NA	Conforme		
Injecteur de produit	Injecteur de produit	ND	NA	Conforme		
Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Surface interne	NA	ND	Conforme		
Coude	Surface interne	ND	<LOD	Conforme		

Tableau XXIX : Résultat de l'analyse physicochimique du lot 002.

Résultat de l'analyse physicochimique – LOT 2						
Equipement	Point critique	Type de prélèvement				Statut
		Eaux de rinçage		Ecouvillonnage		
		Résultat µg/ml	Norme	Résultat µg/100cm ₂	Norme	
Cuve 20L	Couvercle cuve	NA	10µg/ml	ND	100µg/100cm ²	Conforme
	Surface interne	ND		<LOD		Conforme
	Tuyau J	ND		ND		Conforme
	Vanne de produit	NA		ND		Conforme
	Tube produit	ND		ND		Conforme
Flexible de transfert	Flexible de transfert	ND		ND		Conforme
Tige d'agitation	Tige d'agitation	NA		<LOD		Conforme
Cuve 500L préparation	Surface interne	NA		ND		Conforme
	Point d'échantillonnage	ND		NA		Conforme
	Carter filtre	ND		ND		Conforme
Cuve 500L stockage	Surface interne	NA	<LOD	Conforme		
	Point d'échantillonnage	ND	NA	Conforme		
	Carter filter	ND	ND	Conforme		
	Fin de ligne	NA	ND	Conforme		
Cuve tampon	Cuve tampon	ND	ND	Conforme		
	Couvert cuve	NA	<LOD	Conforme		
Manifold	surface interne	ND	ND	Conforme		
Flexible de remplissage	Flexible de remplissage	ND	NA	Conforme		
Injecteur de produit	Injecteur de produit	ND	NA	Conforme		
Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Surface interne	NA	ND	Conforme		
Coude	Surface interne	ND	ND	Conforme		

Tableau XXX : Résultat de l'analyse physicochimique du lot 003.

Résultat de l'analyse physicochimique – LOT 3						
Equipement	Point critique	Type de prélèvement				Statut
		Eaux de rinçage		Ecouvillonnage		
		Résultat µg/ml	Norme	Résultat µg/100cm ²	Norme	
Cuve 20L	Couvercle cuve	NA	10µg/ml	<LOD	100µg/100cm ²	Conforme
	Surface interne	ND		<LOD		Conforme
	Tuyau J	ND		<LOD		Conforme
	Vanne de produit	NA		<LOD		Conforme
	Tube produit	ND		<LOD		Conforme
Flexible de transfert	Flexible de transfert	ND		<LOD		Conforme
Tige d'agitation	Tige d'agitation	NA		<LOD		Conforme
Cuve 500L préparation	Surface interne	NA		<LOD		Conforme
	Point d'échantillonnage	ND		NA		Conforme
	Carter filtre	ND		<LOD		Conforme
Cuve 500L stockage	Surface interne	NA		<LOD		Conforme
	Point d'échantillonnage	ND		NA		Conforme
	Carter filter	ND		<LOD		Conforme
	Fin de ligne	NA		<LOD		Conforme
Cuve tampon	Cuve tampon	ND		<LOD		Conforme
	Couvert cuve	NA	<LOD	Conforme		
Manifold	surface interne	ND	<LOD	Conforme		
Flexible de remplissage	Flexible de remplissage	ND	NA	Conforme		
Injecteur de produit	Injecteur de produit	ND	NA	Conforme		
Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Surface interne	NA	<LOD	Conforme		
Coude	Surface interne	ND	<LOD	Conforme		

Tableau XXXI : Résultat de l'analyse microbiologique du lot 001.

Résultat de l'analyse microbiologique – LOT 1						
Equipement	Point critique	Type de prélèvement				Statut
		Eaux de rinçage		Ecouvillonnage		
		Résultat UFC/100 cm ²	Norme	Résultat UFC/100 cm ²	Norme	
Cuve 20L	Couvercle cuve	NA	10 ⁴ UFC/100cm ²	<01	10 ² UFC/100cm ²	Conforme
	Surface interne	<01		<01		Conforme
	Tuyau J	<01		<01		Conforme
	Vanne de produit	NA		<01		Conforme
	Tube produit	<01		<01		Conforme
Flexible de transfert	Flexible de transfert	<01		<01		Conforme
Tige d'agitation	Tige d'agitation	NA		<01		Conforme
Cuve 500L préparation	Surface interne	NA		02		Conforme
	Point d'échantillonnage	29		NA		Conforme
	Carter filtre	68		10		Conforme
Cuve 500L stockage	Surface interne	NA		<01		Conforme
	Point d'échantillonnage	143		NA		Conforme
	Carter filter	159		06		Conforme
	Fin de ligne	NA		<01		Conforme
Cuve tampon	Cuve tampon	<01		<01		Conforme
	Couvert cuve	NA	<01	Conforme		
Manifold	surface interne	<01	<01	Conforme		
Flexible de remplissage	Flexible de remplissage	<01	NA	Conforme		
Injecteur de produit	Injecteur de produit	<01	NA	Conforme		
Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Surface interne	NA	<01	Conforme		
Coude	Surface interne	<01	<01	Conforme		

Tableau XXXII: Résultat de l'analyse microbiologique du lot 002.

Résultat de l'analyse microbiologique – LOT 2						
Equipement	Point critique	Type de prélèvement				Statut
		Eaux de rinçage		Ecouvillonnage		
		Résultat UFC/100 cm ²	Norme	Résultat UFC/100 cm ²	Norme	
Cuve 20L	Couvercle cuve	NA		03		Conforme
	Surface interne	10		04		Conforme
	Tuyau J	01		03		Conforme
	Vanne de produit	NA		03		Conforme
	Tube produit	01		04		Conforme
Flexible de transfert	Flexible de transfert	<01		03		Conforme
Tige d'agitation	Tige d'agitation	NA		06		Conforme
Cuve 500L préparation	Surface interne	NA		03		Conforme
	Point d'échantillonnage	67		NA		Conforme
	Carter filtre	72		36		Conforme
Cuve 500L stockage	Surface interne	NA	10 ⁴ UFC/100cm ²	02	100µg/100cm ²	Conforme
	Point d'échantillonnage	144		NA		Conforme
	Carter filter	130		06		Conforme
	Fin de ligne	NA		04		Conforme
Cuve tampon	Cuve tampon	01		03		Conforme
	Couvert cuve	NA		03		Conforme
Manifold	surface interne	<01		01		Conforme
Flexible de remplissage	Flexible de remplissage	<01		NA		Conforme
Injecteur de produit	Injecteur de produit	<01		NA		Conforme
Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Surface interne	NA		04		Conforme
Coude	Surface interne	<01		04		Conforme

Tableau XXXIII : Résultat de l'analyse microbiologique du lot 003.

Résultat de l'analyse microbiologique – LOT 3						
Equipement	Point critique	Type de prélèvement				Statut
		Eaux de rinçage		Ecouvillonnage		
		Résultat UFC/100 cm ²	Norme	Résultat UFC/100 cm ²	Norme	
Cuve 20L	Couvercle cuve	NA		<01		Conforme
	Surface interne	<01		<01		Conforme
	Tuyau J	<01		<01		Conforme
	Vanne de produit	NA		<01		Conforme
	Tube produit	<01		<01		Conforme
Flexible de transfert	Flexible de transfert	<01		<01		Conforme
Tige d'agitation	Tige d'agitation	NA		<01		Conforme
Cuve 500L préparation	Surface interne	NA		<01		Conforme
	Point d'échantillonnage	<01		NA		Conforme
	Carter filtre	<01		<01		Conforme
Cuve 500L stockage	Surface interne	NA	10 ⁴ UFC/100cm ²	<01	100µg/100cm ²	Conforme
	Point d'échantillonnage	<01		NA		Conforme
	Carter filter	<01		<01		Conforme
	Fin de ligne	NA		<01		Conforme
Cuve tampon	Cuve tampon	<01		<01		Conforme
	Couvert cuve	NA		<01		Conforme
Manifold	surface interne	<01		<01		Conforme
Flexible de remplissage	Flexible de remplissage	<01		NA		Conforme
Injecteur de produit	Injecteur de produit	<01		NA		Conforme
Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Surface interne	NA		<01		Conforme
Coude	Surface interne	<01		<01		Conforme

Tableau XXXIV : Résultat du dénombrement des BGN.

Equipement	Point prélevés	E.coli & P. aeruginosa						Statut
		Eaux de rinçage			Ecouvillonnage			
		Lot 001	Lot 002	Lot 003	Lot 001	Lot 002	Lot 003	
Cuve 20L	Couvercle cuve	N/A			Absence			Conforme
	Surface interne	Absence			Absence			Conforme
	Tuyau J	Absence			Absence			Conforme
	Vanne de produit	N/A			Absence			Conforme
	Tube produit	Absence			Absence			Conforme
Flexible de transfert	Flexible de transfert	Absence			Absence			Conforme
Tige d'agitation	Tige d'agitation	N/A			Absence			Conforme
Cuve 500L préparation	Surface interne	N/A			Absence			Conforme
	Point d'échantillonnage	Absence			N/A			Conforme
	Carter filtre	Absence			Absence			Conforme
Cuve 500L stockage	Surface interne	N/A			Absence			Conforme
	Point d'échantillonnage	Absence			N/A			Conforme
	Carter filter	Absence			Absence			Conforme
	Fin de ligne	N/A			Absence			Conforme
Cuve tampon	Cuve tampon	Absence			Absence			Conforme
	Couvert cuve	N/A			Absence			Conforme
Manifold	Surface interne	Absence			Absence			Conforme
Flexible de remplissage	Flexible de remplissage	Absence			Absence			Conforme
Injecteur de produit	Injecteur de produit	Absence			N/A			Conforme
Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Surface interne	N/A			Absence			Conforme
Coude	Surface interne	Absence			Absence			Conforme

Tableau XXXV : Résultat de l'analyse visuelle

Lots	Equipements prélevés	Présence de résidus visible du produit	Norme	Statut
Lots 1, 2 & 3	Cuve 20L	Non	Absence de taches et de résidus visibles	Conforme
	Flexible de transfert	Non		Conforme
	Tige d'agitation	Non		Conforme
	Cuve 500L préparation	Non		Conforme
	Cuve 500L stockage	Non		Conforme
	Cuve tampon	Non		Conforme
	Manifold	Non		Conforme
	Flexible de remplissage	Non		Conforme
	Injecteur de produit	Non		Conforme
	Vanne d'échantillonnage de la cuve tampon	Non		Conforme
	Coude	Non		Conforme

IV. Discussion :

1 Stratégie de contrôle de contamination

1.1. Évaluation de l'Efficacité des Mesures de Maîtrise des Risques

Avant la mise en œuvre des mesures de maîtrise, plusieurs risques sont identifiables comme critiques avec des Indices de criticité compris entre 40 et 80. Ces risques seraient principalement associés à la contamination particulière et microbiologique, à une gestion inadéquate des flux de personnel et de matériel, ainsi qu'à des insuffisances dans la surveillance environnementale [6].

L'implémentation d'un ensemble structuré d'actions préventives et correctives incluant la classification des zones, l'installation de centrales de traitement d'air (CTA) performantes avec filtration HEPA, le contrôle d'accès biométrique, l'utilisation de passe-box, la mise en œuvre d'une surveillance environnementale active, la maintenance rigoureuse des équipements et la formation continue du personnel a permis de ramener les niveaux de risque à des valeurs faibles, avec des indices de criticité inférieures ou égales à 10 [21].

Cette réduction significative des risques témoigne de l'efficacité d'une approche systémique et intégrée, articulant équipements, procédures, surveillance et compétence humaine. Elle est en parfaite conformité avec les exigences de l'Annexe 1 des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) 2024 [5] et les standards internationaux applicables à l'environnement de production stérile [28].

1.2. Conformité aux exigences clés de l'annexe 1 :

L'évaluation a porté sur sept axes majeurs de la CCS [22].

Tableau XXXVI : Evaluation de la CCS :

Axe de la CCS	Mesures mises en œuvre	Statut
Conception des locaux	Flux unidirectionnels, zonage, surpression	Conforme
Contrôle des flux (personnel/matières)	Circuits séparés, sas à transfert, procédures d'habillage strictes	Conforme
Formation du personnel	Qualification initiale + recyclage annuel	Conforme
Maîtrise du nettoyage/désinfection	Protocoles validés, rotation des désinfectants	Conforme
Surveillance environnementale	Contrôles particuliers et microbiens réguliers	Conforme
Documentation du CCS	Plan CCS structuré avec liens vers procédures et rapports	Conforme
Gestion des déviations	Système CAPA, revues de qualité trimestrielles	Conforme

2 Validation de nettoyage :

2.1. Choix du worst case :

2.1.1. Worst case équipement :

Les équipements pires cas ont été regroupés selon leur forme géométrique, leur usage ainsi que leur méthode de nettoyage, ensuite un seul équipement représentatif est choisi comme pire cas [29]

Dans le groupe 01 : la cuve de stockage de 500L est considérée comme pire cas, pour le temps de contact prolongé et le risque de résidus dans les conduites internes longues non visibles (non contrôlable visuellement) [29].

Dans le groupe 02 : la surface interne des flexibles des cuves non accessibles pour le nettoyage, provoquant un risque de rétention, ainsi que la forte concentration en principe actif, font que la cuve ayant la superficie la plus grande (cuve 50L) est choisi comme pire cas.

Dans le groupe 03 : les flexibles de remplissage à la surface interne étroite avec un temps de contact prolongé avec le PA font de lui l'équipement worst case [37].

2.1.2. Worst case produit :

2.1.2.a Traceur physico-chimique :

Les indices scores obtenue pour la nettoyabilité, solubilité et la toxicité selon l'approche PDE, donnent pour le produit B le score le plus élevé (score = 80). Donc le produit B est choisi comme traceur physico-chimique pour la validation de nettoyage de la ligne de production stérile (nasale) [37].

2.1.2.b. Traceur microbiologique :

Le produit B ayant la limite d'acceptation la moins stricte, l'activité antimicrobienne la plus faible ainsi que le nettoyage le plus difficile, reflétant le score le plus élevé (score = 32) est choisi comme traceur microbiologique pour la validation de nettoyage de la ligne de production stérile (nasale) [37].

2.2. Critères d'acceptation :

2.2.1. Critères d'acceptation en vue de l'analyse physico-chimique :

2.2.1.a. Dose journalière admissible (PDE) :

Déterminer la valeur de PDE est une étape cruciale pour définir les limites d'acceptation en validation de nettoyage. Dans la présente étude la valeur calculée de PDE la plus faible est celle du produit A qui présente une valeur très stricte ($PDE = 0.0002\text{mg/jour} = 0.2\mu\text{g/jour}$).

Cependant, la valeur de PDE la plus faible ne représente pas le produit pire cas retenu (produit B), cela s'explique par les critères complémentaires à cette toxicité (Nettoyabilité et solubilité) qui en font du produit B la substance la plus représentative de la méthode de nettoyage [37].

En effet, la détermination du worst case s'inscrit dans une démarche holistique combinant les paramètres de toxicité, de nettoyabilité et de solubilité, si le produit A a une toxicité élevée mais une solubilité et une nettoyabilité de moindre degrés, cela ne fait pas de lui une substance pire cas.

Par ailleurs, une valeur de PDE très basse conditionne les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) à des seuils très strictes, donc une validation analytique très rigoureuse conformément aux bonnes pratiques de fabrication et aux recommandations de l'ICH Q2.

2.2.1.b. Limites d'acceptation :

Le calcul des limites d'acceptation pour le prélèvement par écouvillonnage et par eau de rinçage à partir de la valeur de PDE du produit A sur une surface de 100cm² a révélé des valeurs extrêmement élevées de résidus, dépassant les seuils généralement admis [37]. Or la majorité des taches des produits sont visibles à la surface d'un équipement à des teneurs situées entre 100 à 400µg/100cm² [29].

Face à cette problématique, on a décidé d'abaisser ces valeurs de limites résiduelles acceptable (ARL) à 100µg/100cm² pour le prélèvement par écouvillonnage, et 10µg/ml pour le prélèvement par eau de rinçage selon le critère visuel [39].

Cette décision survient dans le cadre de la stratégie de contrôle de contamination (CCS) ainsi que la conformité aux bonnes pratiques de fabrication, en effet cela impose une vigilance accrue dans la validation de la méthode de nettoyage et permet d'avoir une sécurité et conformité visuelle assurant que les résidus détectés soient en dessous du seuil visuel.

2.2.2 Critères d'acceptation en vue de l'analyse microbiologique :

Les analyses microbiologiques obtenues sur les lots de produits de la ligne de production ont montré une conformité totale à ces critères :

Dénombrement des Germes Aérobie Totaux (DGAT) : les enregistrements restent à des niveaux inférieurs aux seuils spécifiés (<10² UFC/100cm² pour les prélèvements par écouvillonnage et <10⁴UFC/100cm² pour les prélèvements par eau de rinçage) [25].

Dénombrement des Levures et Moisissures Totales (DMLT) : pas de croissance fongique détectée sur les échantillons testés, ceci confortant l'absence de contamination fongique résiduelle [25].

Absence d'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, La conformité obtenue sur ces paramètres constitue donc une validation indirecte mais significative de l'efficacité du protocole, en termes de maîtrise de la contamination vivante.

Les résultats confirment la fiabilité du processus de nettoyage, en montrant une maîtrise accrue de la contamination microbiologique post-nettoyage en accord avec les règles d'un espace de production stérile. Bien que les produits fabriqués

actuellement soient à faible charge microbienne, les seuils microbiologiques appliqués tiennent compte du niveau de risque lié à la nature des produits et aux catégories de zones, afin que la ligne réponde aux exigences de la production stérile [23].

2.3. Validation analytique de la méthode de recherche de traces :

2.3.1. Conformité du système chromatographique :

La valeur de RSD obtenu en divisant l'écart type sur la moyenne des aires des pics du produit B est égale à 0.1% ($\leq 2\%$). Ce résultat est la preuve d'une excellente répétabilité du système selon les exigences réglementaires, donc une très bonne fiabilité de la méthode analytique [6].

Le nombre de plateaux théoriques de 8110 est une valeur élevée qui traduit une bonne efficacité chromatographique, cela permet une bonne séparation des substances et une meilleure détection des résidus ou impuretés [6].

Le facteur de symétrie obtenu (1.2) rentre dans l'intervalle d'acceptation [0.8-1.5], qui traduit l'obtention de pic symétrique facilitant le calcul des concentrations en analytes, une bonne séparation et une reproductibilité des résultats [6].

2.3.2. Linéarité :

La droite de régression obtenue nous donne un coefficient de corrélation $R = 0.9999$ supérieur au critère d'acceptation (≥ 0.99). Ce résultat démontre que la méthode de recherche de traces du produit B est linéaire dans l'intervalle de 10% à 250% de la concentration étudiée, attestant de l'efficacité de la méthode de validation analytique [6].

2.3.3. Fidélité :

2.3.3.a. Répétabilité :

Cette approche vise à démontrer la constance des résultats obtenus dans des conditions identiques pour garantir la fiabilité de la méthode.

Le calcul du RSD (Relative Standard Deviation) ou écart type relatif s'est achevé par une valeur de 1.4% entrant dans la limite d'acceptation ($\leq 5\%$) [6]. Cette valeur met en avant une bonne précision répétée de la méthode analytique.

2.3.3.b. Taux de recouvrement :

Les résultats des essais de rendements de recouvrement sur trois niveaux de concentration

en 03 jours démontrent un résultat de 92%, supérieur au critère d'acceptation (70%) [37].

Ces taux élevés et stables témoignent de la précision de la méthode, notamment dans le contexte de la production stérile ou la qualité et la sécurité du produit fini sont primordiales. On peut donc juger que la méthode de prélèvement est fidèle.

2.3.4. Limites de détection et de quantification :

Les résultats ont été déterminés à partir de la courbe de régression linéaire, en utilisant des données de concentration et hauteur de pic. Ces valeurs (LOD = 0.04 µg/ml, LOQ = 0.13 µg/ml) suggèrent une excellente sensibilité de la méthode analytique.

Par ailleurs, la limite de quantification est nettement inférieure à la valeur d'ARL fixée dans le cadre de la validation de nettoyage comme il est recommandé dans les guidelines (ICHQ2) [13], ce qui prouve ainsi que la méthode analytique est suffisamment sensible pour détecter et quantifier les résidus en dessous des seuils acceptables, assurant la maîtrise complète des risques de contamination croisée, la maîtrise des équipements et des zones critiques.

2.4. Résultats de la validation de nettoyage :

L'utilisation d'une analyse de risque AMDEC a permis d'identifier les points critiques à cibler, réduisant ainsi le risque d'erreur d'échantillonnage et augmentant la représentativité des prélèvements. Cette approche a renforcé la logique de validation, en assurant une couverture des zones potentiellement les plus sensibles à la contamination croisée [13].

L'intégration du nettoyage dans une stratégie globale de contrôle de la contamination (CCS) constitue également un point fort de cette étude. Le nettoyage n'est pas traité comme une opération isolée, mais comme un maillon clé d'un ensemble cohérent incluant la conception hygiénique des équipements, la formation du personnel, la gestion des flux, et le contrôle environnemental [37].

Les résultats obtenus à l'issue de la production des trois lots de validation du produit pire cas suivi du nettoyage majeur des équipements de la ligne de fabrication des formes stériles sont conformes aux limites d'acceptation pour l'ensemble des points du plan d'échantillonnage et ce, de point de vue physico-chimique et microbiologique. Ce qui

atteste de la validité du procédé de nettoyage objet du présent travail.

V-Conclusion et perspectives :

La présente étude, menée au sein de l'unité de fabrication des formes stériles PROFAM a mis en avant l'importance du contrôle de la contamination par le biais d'une stratégie intégrée dans le protocole de validation de nettoyage, conformément aux exigences nouvelles de l'annexe 1 des bonnes pratiques de fabrication.

L'implémentation d'une approche basée sur le risque via l'analyse AMDEC autour des flux et zones classées, a conduit à une meilleure gestion du risque de contamination en réduisant considérablement les indices de criticité. On note également que le protocole de validation de nettoyage a permis d'avoir des limites d'acceptation strictes via l'approche PDE, ainsi que la validation analytique ayant permis de confirmer la fiabilité de la méthode de recherches de traces.

Les trois lots de validation se sont conclus par des résultats conformes, tant sur le plan physico-chimique que sur le plan microbiologique, respectant les seuils réglementaires de propreté, indispensable pour conclure à la validation du procédé. Les résultats confirment la capacité du site de production stérile PROFAM à maîtriser le nettoyage de ses équipements de production, dans un cadre rigoureux, fondé sur la gestion du risque.

Un système de gestion documentaire électronique pour la digitalisation de la stratégie CCS, ajoutant de la fluidité dans le système de traçabilité, ainsi qu'une meilleure prévention des déviations par l'intermédiaire d'outils d'analyse prédictive tel que l'intelligence artificielle ou la modélisation du nettoyage, seront sans doute les axes à faire valoriser à l'avenir dans une industrie pharmaceutique en constante évolution.

Références bibliographiques :

- [1] IFPMA. Pharmaceutical Industry and Global Health: Facts and Figures. Geneva: International Federation of Pharmaceutical Manufacturers & Associations; 2021.
- [2] Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). *Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments à usage humain – Volume 4, Partie I : Exigences générales*. Saint-Denis : ANSM ; 2023.
- [3] WHO. Contamination Control in Pharmaceutical Manufacturing. WHO Technical Report Series; 2020.
- [4] U.S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice. 2004.
- [5] Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). *Bonnes Pratiques de Fabrication – Volume 4, Annexe 1 : Fabrication des médicaments stériles*. Version d'août 2022, applicable depuis le 25 août 2023. Saint-Denis : ANSM ; 2023.
- [6] ICH. ICH Q9(R1) - Quality Risk Management. International Council for Harmonisation; 2023.
- [7] ICH. ICH Q10 - Pharmaceutical Quality System. International Council for Harmonisation; 2008.
- [8] ISPE. Cleaning Validation Lifecycle – Applications, Methods & Controls. ISPE; 2019.
- [9] USP. <1225> Validation of Compendial Procedures. United States Pharmacopeia.
- [10] EMA. Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities. European Medicines Agency; 2018.
- [11] Farris S. PDE Approach in Cleaning Validation: Theory and Practice. J Validation Technol. 2020.
- [12] FDA. Guide to Inspection of Cleaning Validation. U.S. FDA; 1993.
- [13] ICH *Harmonised Guideline – Validation of Analytical Procedures: ICH Q2(R2)*. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 2022.
- [14] Agalloco J, Carleton FJ. Validation of Pharmaceutical Processes: Sterile Products. CRC Press; 2019.
- [15] PIC/S. PI 041-1 Good Practices for Data Management and Integrity in Regulated GMP/GDP Environments. 2021.
- [16] ISPE. GAMP 5 - A Risk-Based Approach to Compliant GxP Computerized Systems. 2nd Edition; 2022.
- [17] VIDAL, Dictionnaire Vidal des médicaments 2025, Edition Vidal, Paris.
- [18] Procédure interne de prélèvement par écouvillonnage des équipements.
- [19] PROFAM SPA. Procédure interne de validation de nettoyage. Alger (Algérie) ; 2025. Document interne.
- [20] PROFAM SPA. Plan de la ligne de production aseptique. Alger (Algérie) : PROFAM SPA ; 2025. Document interne.
- [21] ISPE Baseline Guide Vol. 5: Commissioning and Qualification, 2nd ed., 2019.
- [22] PDA Technical Report No. 54-5: Contamination Control Strategy Development in Facilities Manufacturing Sterile Products, 2023.
- [23] WHO TRS No. 1019, 2020, Annex 2: GMP for sterile pharmaceutical products.
- [24] ISO 14644-1:2015 – Cleanrooms and associated controlled environments – Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration.
- [25] USP <1116> Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing Environments.
- [26] ISO 14644-1:2015 – Cleanrooms and associated controlled environments – Part 1:

Classification of air cleanliness by particle concentration.

[27] ECA – CCS Guidance Document, Contamination Control Strategy, Version 2023.

[28] PIC/S. "Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products – Annex 15: Qualification and Validation", Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S), PE 009-16, 2022.

[29] Active Pharmaceutical Ingredient Committee (APIC). *Guideline on Cleaning Validation*. Version 2.1. Brussels: APIC/CEFIC; 2021.

[30] SFSTP. "Lignes directrices pour la validation du nettoyage", Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques, 2019.

[31] WHO. "Annex 7: WHO Guidelines on Cleaning Validation." WHO Technical Report Series, No. 1019, 2019.

[32] Fourtillan, J. B. & Luu Duc, C. *Traité de Pharmacologie*, 2e éd., Lavoisier, 2018.

[33] PDA. Technical Report No. 29 – Points to Consider for Cleaning Validation, Parenteral Drug Association, 2012.

[34] Pharmacopée Européenne, 11e édition. Conseil de l'Europe, Direction européenne de la qualité du médicament (EDQM), 2023.

[35] PR MAMOU Marzouk, *Stratégies de validation de nettoyage en industrie pharmaceutique : Nouvelles recommandations et applications aux équipements de fabrication dans un site multiproduits*. Thèse de doctorat en sciences médicales, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Faculté de Médecine, Département de Pharmacie, 2018.

[36] SFSTP. "Lignes directrices pour la validation du nettoyage", Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques, 2019.

[37] ISPE. "Cleaning Validation Lifecycle – Applications, Methods, & Controls", ISPE Baseline Guide Vol. 7, 2020.

[38] Parenteral Drug Association (PDA). Technical Report No. 54-5: Contamination Control Strategy Development in Facilities Manufacturing Sterile Products. 2023

[39] Bailly J, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : Stratégie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique. France, université Claude Bernard - Lyon I Faculté de pharmacie. 19 Mai 2004

[40] ICH. *ICH Harmonised Guideline – Good Manufacturing Practice Guide for Active Pharmaceutical Ingredients: Q7*. International Council for Harmonisation; 2000.

[41] MASUU, Global Pharma Regulatory, Quality, Services & Software company, Report for Permitted Daily Exposure (PDE).

ANNEXES

Tableau XXXVIII : Résultat de l'analyse AMDEC.

Élément / Processus	Mode de défaillance	Cause principale	Effet potentiel	C avant				Mesures correctives mises en place	C après			
				G	F	D	C		G	F	D	C
Classification des zones (A, C, D, CNC)	Mauvaise classification ou dégradation	Non-respect normes, défaut conception locaux	Contamination produit, non-conformité réglementaire	5	4	4	80	Mise en place stricte des classes, contrôle régulier, audits internes	1	2	2	4
Système de traitement d'air (CTA)	Flux d'air inadéquat, filtration insuffisante	Défaut filtration, défaillance CTA, mauvais réglage débits	Contamination particulaire et microbiologique	5	4	4	80	Filtration en cascade G4-F7-F9-H14, contrôle pression >7,5 Pa, renouvellement d'air adapté (25x/h classe C, 15x/h classe D)	1	2	2	4
Filtration HEPA H14	Fuite, colmatage, inefficacité filtre	Usure, défaut installation, absence de test d'intégrité	Contamination microbienne, non-respect normes	5	3	5	75	Qualification périodique du système HVAC Surveillance continue	1	1	2	2
Surveillance particulaire (actif/passif)	Non détection contamination particulaire	Fréquence insuffisante, équipement défectueux	Contamination non détectée, risque patient	5	3	4	60	Échantillonnage actif par pompes, passif par sédimentation, fréquence adaptée	2	1	2	4
Surveillance microbiologique	Retard ou absence de détection microbienne	Fréquence faible, méthodes inadéquates, identification lente	Contamination non détectée, risque pour la stérilité	5	3	4	60	Prélèvements sur TSA toutes les 4h, incubation BGAT et moisissures, identification rapide API et VITEK 2	5	1	2	10
Gestion des flux de personnes	Contamination croisée par personnel	Circulation non contrôlée, accès libre	Contamination produit, risque patient	5	4	4	80	Accès biométrique par empreinte digitale, sas d'entrée/sortie séparés, parcours définis, gowning strict	1	2	2	4
Gestion des flux de matières et matériels	Contamination croisée par transfert	Mauvaise séparation, absence passe-box	Contamination produit, non-conformité	5	4	4	80	Passe-box actifs (UV, fumigation) et passifs, procédures strictes de nettoyage et désinfection	1	2	2	4
Renouvellement d'air insuffisant	Accumulation particules et microbes	CTA mal dimensionné, défaillance ventilation	Contamination produit, non-respect normes	5	3	4	60	Débits adaptés : 25 renouvellements/h classe C, 15 renouvellements/h classe D, contrôle continu des débits	2	1	2	4

Production d'air comprimé et azote pharmaceutique	Contamination huile, particules, microbes	Défaut filtration, absence contrôle qualité	Contamination produit, risque patient	5	2	4	40	Tests réguliers (point de rosée huileux, pureté, particules viables/non viables), maintenance rigoureuse	2	1	2	4
Contrôle des accès	Accès non autorisé	Absence de contrôle biométrique	Contamination croisée, intrusion zones sensibles	5	3	4	60	Contrôle d'accès par empreinte digitale, traçabilité des entrées/sorties	1	1	2	2
Systèmes de passe-box	Mauvais transfert, contamination	Dysfonctionnement passe-box, protocoles non respectés	Contamination produit, risque microbiologique	5	3	4	60	Passe-box actifs et passifs, protocoles stricts de nettoyage/désinfection, formation du personnel	1	1	2	2
Maintenance et tests périodiques	Omission ou retard maintenance	Planning non respecté, ressources insuffisantes	Défaillance équipements, contamination	5	3	4	60	Programme de maintenance préventive, tests d'intégrité filtres, calibration capteurs	2	1	2	4
Formation du personnel	Non-respect procédures, erreurs humaines	Formation insuffisante, turnover élevé	Contamination croisée, non-conformité	5	4	4	80	Formation régulière, sensibilisation aux BPF, audits internes	2	2	2	6
Surveillance environnementale et documentaire	Données incomplètes ou non exploitables	Absence de suivi, erreurs saisie	Retard détection contamination, non-conformité	5	3	4	60	Système informatisé de collecte et analyse des données, alertes automatiques	2	1	2	4
Procédures de nettoyage et désinfection	Nettoyage insuffisant	Protocoles non respectés, produits inadaptés	Contamination persistante, risque microbiologique	5	4	4	80	Protocoles validés, contrôles microbiologiques post-nettoyage, audits réguliers	2	2	2	6



Figure 01 : Schéma représentatif des différentes zones classées.



Figure 02 : Schéma représentatif du flux matière.



Figure 03 : Schéma représentatif du flux de personnel.