

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم : **Biologie Appliquée**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Bioindustrie Analyse et Contrôle**

Intitulé :

Validation de méthode de nettoyage de la verrerie

Présenté par : GUELLOUR Madiha

Le : .../.../2017

HARIZI Rbiha yasmine

Devant le jury :

Président :

Rapporteur : Mme. BENCHIHEUB Meriem

M.C.B., U.M.C. Constantine

Examinatrice :

Année universitaire

2016 – 2017

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté (-) des Sciences de la nature et de la vie département biologie appliquée, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

A Mr KACEM CHAOUACH

Chef de département biologie appliquée

Nous exprimons toute notre reconnaissance et gratitude à vous pour vos efforts à nous garantir la continuité et l'aboutissement de ce programme de Master

C'est avec un grand plaisir nous vous remercions infiniment, pour nous avoir assuré une formation de qualité, ainsi que tous le corps professoral, et toute le corps administratif pour tous les efforts fournis durant ces deux années de master.

A Mme BEN CHIHEB. Meriem

nous remercions notre encadrant Mme M Benchiheb pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

A Mme BENCHAITB. Feriel

responsable du laboratoire de contrôle qualité au site pharmaceutique LDM
GROUPE

Pour l'honneur que vous nous faites d'accepter de diriger cette thèse et d'en
présider le jury.

Pour les informations que vous nous avez dispensé pendant toutes ces mois
de stage, et qui

seront les bases solides de notre futur métier, ceci malgré votre
innombrables responsabilités au sein de votre poste de travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profonde
gratitude.

A MIMOUNI Kenza

Microbiologiste dans le laboratoire de contrôle qualité au site pharmaceutique
LDM groupe

je tiens à remercier sincèrement notre chère KANZA, notre guide de stage,
pour avoir accueillie au sein du laboratoire contrôle qualité, pour avoir guidé
dans notre travail, pour sa confiance et ces conseils avisés sur le métier d'un
microbiologiste et d'un analyste d'une façon générale.

J'adresse un grand merci à toute l'équipe de LDM groupe, une pensée
particulière à kenza, nor eddine, abd elwadoud, amira aissa, yacine nasr eddine
ines, oumaima, adel, karamelnesrine, hadjer hind, hayet, merci pour vos
encouragements, votre confiance et surtout votre bonne humeur qui nous
accompagné tout au long de notre stage.

Dédicace

Je dédie ce travail à

A ma grand-mère

Merci beaucoup ma grande mère c'est par votre prières et votre encouragements, j'ai pu surmonter tous les obstacles.

Mes Parents,

A mes chers parents : Sources de mes joies, secrets de ma force , Vous serez toujours le modèle

Merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfants Grandissent et prospèrent Merci de trimer sans relâche, malgré les péripéties de la vie Au bien être de vos enfants; Merci d'être tout simplement mes parents C'est à vous que je dois cette réussite

Et je suis fier de vous l'offrir

Mama ,papa merci beaucoup je vous aime énormément

Mes sœurs

Souheila , Hiba , Samouna , Dounia , Radia et la femme de mon frère souhaila

Merci d'avoir toujours été présente à mes côtés. Que ce travail soit néanmoins la preuve de toute affectation

Mes frères

Fouad , Houssein

Merci d'être toujours là pour moi je vous aime mes cher frères

A mon âme sœur Yasmine

Merci pour ton soutien surtout quand je me sens mal et merci aussi de partager avec moi mes bonheurs. Tu ne sais pas à quel point tu vas me manquer Que dieu te protège, rare sont les amis comme toi

A toutes ma famille , à toutes personnes qui m'aime et que j'aime

A toutes mes amies précisément **Intissar , Sabrina , Rayen** vous êtes toujours dans mon cœur.

A mes collègues

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Maditha

Dédicace

Je dédie ce travail à

Mes Parents,

Ma mère, qui a oeuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Mama, papa merci beaucoup je vous aime énormément

A mes sœurs

Wafa, nouha, Mes chères sœurs merci pour votre encouragement pour votre patience avec moi surtout cette période je vous aime beaucoup

A mes frères

Zinou, merci mon ange gardien je t'aime et je ne pourrais jamais te remercier assez tu es toujours là pour moi tu m'offres toujours le meilleur et moi je ne trouverais jamais un personne qui occupe ta place.

Seif, mon photographe merci d'être toujours là pour moi pour ton aide quand je crie au secours merci mon petit frère.

Ma tante malika

Ma deuxième mère merci d'avoir toujours été présente à mes côtés merci par votre prières et votre encouragements, j'ai pu surmonter tous les obstacles.

A mouna et walid

Merci pour les bons moments pour les meilleurs sourires pour vous êtes toujours là pour moi je vous aime et je n'oublie jamais la période qu'on a passé ensemble.

A mon âme sœur maditha

Vraiment j'ai pas trouver les mots je te remercie pour ces cinq ans qu'on a passé ensemble, cinq ans ont été pleurer ensemble, sourire ensemble, on a faire des TP ensemble, des exposées ensemble, on a passée des heures, des journées, des années ensemble, tu va me manquer beaucoup ma sœur je t'aime trop.

A toutes ma famille, à toutes personnes qui m'aime et que j'aime

A toutes mes amies précisément *intissar*, *sabrina* vous êtes toujours dans mon cœur.

A toutes mes collègues

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de travail.

Yasmine

Abréviation

AFNOR : Association Française de Normalisation

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

BPF : Bonne Pratique de Fabrication

CA : Critère d'Acceptation

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

FDA : Food and Drug Administration

HACCP : Hazad Analysis Critical Control Point

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

IQ : Qualification à l'installation

KH₂PO₄ : Phosphate de potassium monobasique

LOD : Limite de détection

MACO: Maximum allowable carry over: quantité maximale admissible

NA : Non Applicable

OQ : Qualification Opérationnelle

PH : Potentiel d'Hydrogène

Ppm : Partie pour million

PQ : Performance Qualification

RSD : Répétabilité du standard

UFD : Unités Formant Colonies

VMP : Le plan maître de validation annuel

VN : Validation de nettoyage

Liste des figures

Figure 1 : Concept de qualité totale.....	06
Figure 2 : Diagramme 5M représentant les sources de contamination.....	08
Figure 3 : Structure de la validation.....	10
Figure 4 : Schéma de synthèse de la conception d'une procédure de nettoyage.....	14
Figure 5 : Le cercle de Sinner.....	17
Figure 6 : Choix du détergent en fonction de la souillure.....	17
Figure 7 : principe de Validation de Nettoyage.....	20
Figure 8 : Place du contrôle visuel dans les essais de VN.....	21
Figure 9 : Filtration sur membrane.....	38
Figure 10 : Spectre d'absorption de l'eau de rinçage (blanc).....	50
Figure 11 : Spectre d'absorption d'eau de rinçage (cas de verrerie diverse).....	50
Figure 12 : Spectre d'absorption de l'eau de rinçage des pipettes.....	51
Figure 13 : Spectre d'absorption de l'eau de rinçage des vials.....	51
Figure 14 : Dénombrement des microorganismes viables dans les eaux de rinçage par méthode de filtration sur membrane.....	52
Figure 15 : Résultats de l'utilisation des bandelettes MERCK.....	56

Liste des tableaux

Tableau 1 : comparaison du nettoyage automatique avec le nettoyage manuel.....	15
Tableau 2 : Avantages, Inconvénients et Applications des différentes méthodes d'analyse	23
Tableau 3 : Récapitulatif des caractéristiques des différents produits.....	27
Tableau 4 : Grille de cotation de la nettoyabilité des principes actifs.....	31
Tableau 5 : Grille de cotation de la solubilité aqueuse des principes actifs.....	31
Tableau 6 : Classification des principes actifs.....	32
Tableau 7 : Plan de prélèvement.....	35
Tableau 8 : Critères d'acceptation pour la recherche de traces d'HEXANIOS G+R ...	41
Tableau 9 : Critères d'acceptation pour les bandelettes.....	42
Tableau 10 : Différents types de test et les critères d'acceptation	47
Tableau 11 : Résultats des mesures de la conductivité.....	48
Tableau 12 : Résultats des mesures du pH.....	48
Tableau 13: Résultats de la substance oxydable	49
Tableau 14 : Résultats du balayage de spectre UV visible.....	52
Tableau 15 : Résultats de la filtration sur membrane.....	53
Tableau 16: Résultats de la recherche de trace valsartan 20mg par HPLC.....	54
Tableau 17 : Résultats de la recherche de trace valsartan 50mg par HPLC	54
Tableau 18: Résultats de la recherche de trace d'HEXANIOS G+R.....	55
Tableau 19 : Résultats de la recherche de trace d'ammoniums quaternaires.....	56

Table des matières

Abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION	01
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	03
1. Généralité	04
1.1. Norme et la normalisation.....	04
1.2. La pharmacopée.....	05
1.3. Les bonnes pratiques de fabrication.....	05
1.4. La Qualité.....	05
1.4.1. L'Assurance qualité.....	06
1.4.2. Le Contrôle Qualité.....	06
2. Contamination.....	07
2.1. Types de contamination.....	07
2.1.1. Contaminants particuliers.....	07
2.1.2. Contaminants chimiques.....	07
2.1.3. Contaminants microbiologiques.....	07
2.2. Sources des contaminations.....	08
3. La validation.....	09
3.1. Définition.....	09
3.2. Types de validation.....	09
3.2.1. Validation des équipements : Qualification.....	10
3.2.2. Validation du procédé.....	10
3.2.3. Validation des procédés de nettoyage.....	11
3.2.4. Validation des méthodes analytiques.....	12
4. Nettoyage.....	13
4.1. définition.....	13
4.2. Les 10 principes du nettoyage à respecter.....	13
4.3. Méthodes de nettoyage.....	14
4.4. Paramètres influençant le nettoyage.....	16
4.5. Choix du détergent.....	17
4.6. Choix de la verrerie.....	18
4.7. Rinçage.....	19
5. La validation de nettoyage.....	20
5.1. Stratégies de la validation du nettoyage.....	20
5.2. Critères d'acceptation.....	21
5.3. Méthodes de prélèvement.....	22
5.3.1. Type de prélèvement.....	22
6. Les méthodes d'analyses.....	22
6.1. Analyses microbiologiques.....	23
6.2. Analyses physico chimiques.....	23
6.2.1. Méthodes non spécifique	24
6.2.2. Méthodes spécifiques.....	25
7. Le pire des cas « WORST-CASE ».....	26
7.1. Définition.....	26
7.2. Détermination du pire des cas.....	26
8. Système documentaire.....	27
8.1. Le protocole de validation.....	28
8.2. Le rapport de validation.....	28

MATERIEL ET METHODES.....	29
1. Principe.....	30
2. Choix du worst case (le pire des cas).....	30
2.1. Nettoyabilité.....	31
2.2. Solubilité.....	31
2.3. Toxicité.....	32
3. Choix de détergent.....	32
4. Choix de la verrerie.....	33
5. Méthode de validation de nettoyage de la verrerie de laboratoire.....	33
5.1. Nettoyage manuel.....	33
5.2. Prélèvements réalisés.....	34
6. Méthodologie analytique de recherche de traces de contaminants.....	35
6.1. Méthodes non spécifiques.....	36
6.1.1. Mesure de la conductivité.....	36
6.1.2. Mesure du pH.....	36
6.1.3. Un balayage de spectre UV visible.....	37
6.1.4. Substances oxydables.....	37
6.1.5. Recherche des contaminants microbiens.....	37
6.2. Méthode spécifique.....	38
6.2.1. Recherche de traces de VALSARTAN par HPLC.....	39
6.3. Recherche de trace du détergent.....	40
6.3.1. Recherche de traces d'HEXANIOS G+R.....	40
6.3.2. Recherche de traces d'ammoniums quaternaires dans les eaux de rinçage.....	41
7. Critères d'acceptation.....	42
7.1. Critère visuel.....	42
7.2. Méthode non spécifique : Critère absorbance échantillon/absorbance du blanc.....	43
7.3. Méthode spécifique : Critère d'acceptation pour le principe actif.....	43
RESULTATS ET DISCUSSION.....	46
1. Paramètres vérifiés.....	47
2. Critère d'acceptation.....	47
3. Les analyses.....	47
3.1. Inspection visuelle.....	47
3.2. Recherche des traces non spécifiques.....	48
3.2.1. Traces des contaminants chimiques.....	48
3.2.2. La recherche des contaminants Microbiologique.....	52
3.3. Recherche des traces non spécifiques.....	53
3.4. La recherche de trace de détergent.....	55
3.4.1. Détection des traces d'HEXANIOS G+R.....	55
3.4.2. Détection les traces d'ammonium quaternaire.....	56
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	
RESUME	
Abstract	
الملخص	

INTRODUCTION

Introduction

« On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » [1].

Le médicament est un produit actif, que ce soit de manière curative lors d'une utilisation à la juste dose, ou de manière toxique en cas de surdosage, d'interactions médicamenteuses ou de mauvaise qualité. Lors de l'administration d'un médicament, tous les professionnels intervenants dans la chaîne de puis la fabrication jusqu'à la dispensation doivent assurer une qualité constante et maximale du produit [2].

Cette qualité passe par la maîtrise des procédés de fabrication, dans le but d'éviter des contaminations indésirables, problématiques pour la santé publique. Un argument supplémentaire non négligeable en faveur d'un système de nettoyage efficace et validé est le coût engendré par la non-qualité : immobilisations, rappels ou destructions de lots entiers.

La validation du procédé de nettoyage de la verrerie de production est une opération multidisciplinaire, délicate et basée sur la recherche des traces de contaminants chimiques (résidus médicamenteux et agents de nettoyage), microbiologiques et particulaire. Elle permet de prouver que les différentes étapes du nettoyage permettent d'obtenir dans des conditions préétablies une surface ne comportant pas de contamination résiduelle supérieure à une limite préalablement fixée.

La validation du nettoyage est donc un outil de la maîtrise de la qualité car elle contribue à garantir un produit fini de qualité sûre pour le patient.

En quelques années, la validation de nettoyage est ainsi devenue un sujet «dans l'air du temps» et toute l'industrie pharmaceutique soumise aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et soucieuse de s'implanter sur le marché, doit désormais considérer le sujet de façon sérieuse. Le nettoyage des locaux et des équipements doit donc être impliqué dans la

démarche qualité de l'entreprise au même titre que les autres phases de fabrication et, ainsi, être maîtrisé [3].

Au cours de notre stage de fin d'études chez le Laboratoire Servier Industrie LDM, nous avons effectué la validation de méthode de nettoyage de la verrerie et dans laboratoire de contrôle qualité.

La première partie de ce travail décrit les sources de contamination dans l'industrie pharmaceutique et les moyens de lutte mis en place. Puis, une seconde partie qui explique plus précisément le nettoyage dans l'industrie pharmaceutique ainsi que la démarche globale de sa validation.

Enfin, la troisième partie sera consacrée à l'étude d'un cas concret, et à la présentation des résultats de la validation du nettoyage de la verrerie.

Revue
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralité

1.1. Norme et la normalisation

D'après l'ISO (International Organization for Standardization), la définition officielle de la norme est la suivante : « Document établi par consensus et approuvé par un organisme reconnu, qui fournit, pour des usages communs et répétés, des règles, des lignes directrices ou des caractéristiques, pour des activités ou leurs résultats garantissant un niveau d'ordre optimal dans un contexte donné».

La norme doit impérativement :

- Lister les méthodes pour reproduire un produit ou un service,
- Être reconnue par les professionnels du milieu concerné.
- Les normes sont appelés organisme de normalisation.

Les plus connus sont :

- Afnor,
- CEN,
- OASIS,
- et bien sûr ISO [4].

L'organisme ISO précise qu'une norme est une « spécification technique, ou un autre document accessible au public, établie avec la coopération et le consensus ou l'approbation générale de toutes les parties intéressées, fondée sur les résultats conjugués de la science, de la technologie et de l'expérience, visant à l'avantage optimal de la communauté dans son ensemble et approuvée par un organisme qualifié sur le plan national, régional ou international » [5].

La normalisation est le fait d'établir respectivement des normes industrielles, c'est à dire un référentiel commun et documenté, destiné à harmoniser l'activité d'un secteur [6].

Elle est réalisée par des organismes spécialisés, qui sont le plus souvent soit des organismes d'état, soit des organisations créées par les professionnels d'une activité donnée [7].

La normalisation concerne tous les types d'organisation, quel que soient leur taille ou leur secteur d'activité. Une entreprise peut s'investir dans le champ de la normalisation pour anticiper les futures exigences de son marché, valoriser et protéger ses pratiques, produits ou services [8].

1.2. La pharmacopée

Une **pharmacopée** est définie comme une norme pharmaceutique et est un ouvrage réglementaire destiné aux professionnels de santé qui définit :

- Les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments (à usage humain et vétérinaire) voire leur contenant,
- Les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer leur contrôle.

L'ensemble des critères permettant d'assurer un contrôle de la qualité optimale est regroupé et publié sous forme de monographies [9].

1.3. Les bonnes pratiques de fabrication

Les bonnes pratiques de fabrication des médicaments constituent un des éléments de la gestion de la qualité qui garantit que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente, selon les normes de qualité adaptées à leur usage et requises par l'autorisation de mise sur le marché, l'autorisation d'essai clinique ou les spécifications du produit. Les bonnes pratiques de fabrication s'appliquent à la fois à la production et au contrôle de la qualité [10].

1.4. La Qualité

La définition internationale de la qualité est donné par ISO, la norme ISO 8402 « La qualité est l'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites » [11].

Définition AFNOR NFLX 50-120 : la qualité est « l'aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire les besoins présents ou futurs des utilisateurs. Les utilisateurs peuvent être des particuliers, des entreprises, des services publics et sont généralement représentés par le client Les besoins, exprimés ou potentiels, doivent être traduits et formulés en relation avec les différentes étapes nécessaires à la réalisation de la qualité (définition, conception, exécution, emploi). Les composantes de la qualité peuvent être notamment : caractéristiques et performances, fiabilité, maintenabilité, disponibilité, durabilité, sécurité d'emploi, caractère

non polluant, coût global de possession (déboires occasionnés à l'utilisateur à partir de l'acquisition jusqu'à la fin de l'utilisation) » [12].

1.4.1. L'Assurance qualité

L'assurance-qualité est définie, d'après les normes ISO 9000, comme «l'ensemble des actions préétablies et systématiques nécessaires pour donner la confiance appropriée en ce qu'un produit ou service satisfera aux exigences données relatives à la qualité» [13].

L'assurance de la qualité est un vaste concept englobant toutes les questions qui, individuellement ou de façon collective, influent sur la qualité d'un produit. Pour ce qui concerne les produits pharmaceutiques, l'assurance de la qualité peut être déclinée en plusieurs thèmes principaux : l'élaboration, le contrôle de la qualité, la production, la distribution et l'inspection [14].

1.4.2. Le Contrôle Qualité

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 [15].

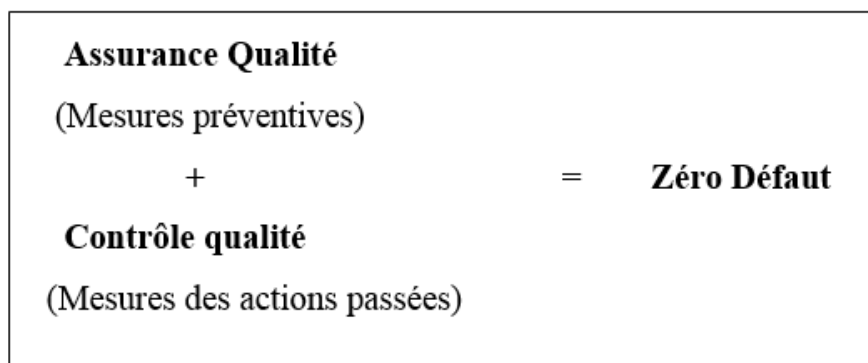


Figure 1 : Concept de qualité totale.

2. Contamination

2.1. Types de contamination

Il est possible de classer les contaminants en 3 catégories.

2.1.1. Contaminants particuliers

Il s'agit des particules inertes, poussières, fibres et toutes les substances qui n'entrent pas dans la composition du produit analysé. Ces contaminants ont plusieurs origines : tellurique, usure des équipements et des machines, humaine, procédés de fabrication... Pour une taille de particules donnée, la contamination particulière est mesurée en nombre de particules par unité de volume. Cette mesure est réalisée à l'aide d'un compteur de particules utilisant le phénomène physique de diffusion de la lumière.

2.1.2. Contaminants chimiques

Il peut s'agir des principes actifs, produits intermédiaires, excipients ou agents de nettoyage de concentration plus ou moins importante.

2.1.3. Contaminants microbiologiques

Ce type de contamination regroupe l'ensemble des organismes vivants tels que les levures, moisissures, bactéries, virus. Dans des conditions favorables (température, humidité, pH, milieu nutritif,...), ils ont la propriété de se multiplier très rapidement et de former des biofilms. La quasi-totalité des microorganismes présents dans l'environnement sont fixés sur des surfaces ou des particules. L'identification et le comptage de la contamination microbiologique peuvent être réalisés à l'aide de différentes techniques. La méthode par culture cellulaire, sur un milieu gélosé adapté au microorganisme recherché, est la plus courante. Dans ce cas, le dénombrement est réalisé directement par comptage des unités formant colonies (UFC) [16]

- **Contamination croisée**

Cette contamination est définie dans les BPF comme la libération incontrôlée de poussières, gaz, vapeurs, aérosols ou organismes à partir des matières premières et des produits en cours de fabrication, des résidus provenant du matériel et des vêtements des opérateurs [17].

On peut distinguer 2 types de contamination croisée.

- **La contamination successive** : elle est rencontrée quand une même verrerie est utilisée pour l'analyse de produits différents. Un résidu du précédent produit resté dans la verrerie va contaminer l'analyse suivante.
- **La contamination simultanée** : elle peut subvenir lorsque deux produits différents sont fabriqués de façon simultanée dans deux 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.

Il faudra donc mettre en place une maîtrise des flux pour que ces derniers ne se croisent jamais [18].

2.2. Sources des contaminations

Il est possible de résumer les différentes sources de contamination par la méthode 5M. Cette méthode est très utilisée en production pour la résolution de problèmes afin de trouver les causes et de proposer les solutions adaptées pour éviter la récurrence des problèmes.

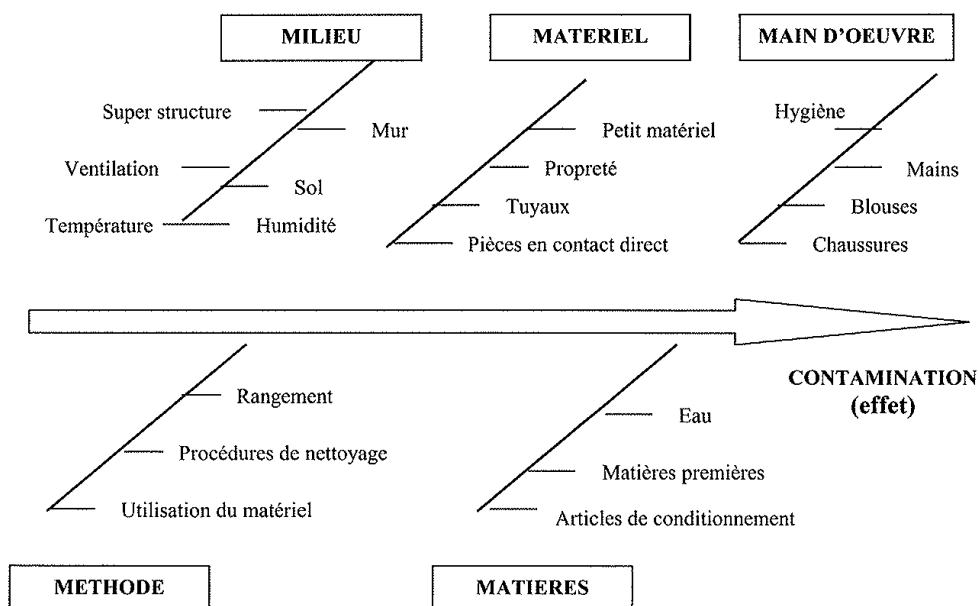


Figure 2 : Diagramme représentant les sources de contamination (5 M) [19].

1 – Matières premières : Tous les principes actifs, Expient utilisés en industries pharmaceutiques.

2 – Matériel : Tous équipements ou verrerie utilisées en industries pharmaceutiques

3 – Main d’œuvre : Le personnel de l’établissement.

4 – Méthode : Gestion des températures de flux dans les zones de production et d'analyse

5 – Milieu : Laboratoire

3. La validation

3.1. Définition

Dans le guide national des bonnes pratiques de fabrication (BPF) , la validation se définit comme étant « Etablissement de la preuve, en conformité avec les principes des bonnes pratiques de fabrication, que la mise en œuvre ou l’utilisation de tout processus, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d’atteindre les résultats escomptés » [20].

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 ».

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 » [21].

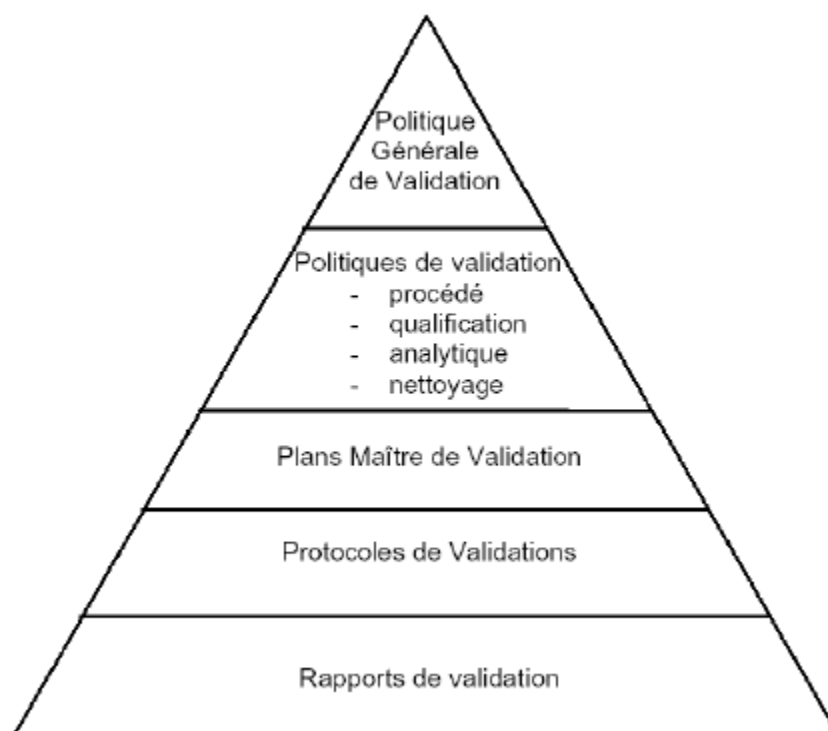


Figure 3 : Structure de la validation.

3.2. Types de validation

3.2.1. Validation des équipements : Qualification

- **Qualification à l'installation (IQ)** : vérification documentée que les installations, systèmes et équipements, tels qu'ils ont été installés ou modifiés, sont conformes à la conception approuvée et aux recommandations du fabricant (vérification « statique »).

- **Qualification opérationnelle (OQ)** : succédant à la qualification à l'installation, c'est la vérification documentée que les installations, systèmes et équipements, tels qu'ils ont été installés ou modifiés, fonctionnent comme prévu sur toute la gamme d'exploitation (vérification « dynamique »).

- **Performance Qualification(PQ)** : dernière étape de qualification, c'est la vérification documentée que les installations, systèmes et équipements, tels qu'ils ont été agencés, sont en mesure de fonctionner de manière efficace et reproductible, sur la base de la méthode opérationnelle approuvée et de la spécification du produit (intégration des procédures, du personnel, des matières premières) [22].

3.2.2. Validation du procédé

La validation du procédé vise à vérifier que toutes les limites établies des paramètres critiques du procédé sont valides et qu'il est possible de fabriquer des produits satisfaisants, même dans les conditions les plus défavorables.

- **Validation prospective** : C'est une validation effectuée avant la production de routine de produits destinés à la vente ou sur un produit fabriqué selon un procédé modifié, comportant des modifications importantes pouvant se répercuter sur les caractéristiques du produit.

- **Validation rétrospective** : La validation rétrospective est réalisée pour un médicament déjà commercialisé et est définie comme l'établissement de la preuve documentée qu'un système fait ce qu'il prétend faire sur la base des données relatives à la fabrication, aux essais et au contrôle du lot .

- **Validation concomitante** : C'est une validation réalisée durant la production de routine de produits destinés à la vente qui n'est utilisée qu'à titre exceptionnel et qui doit être justifiée [22].

- **Revalidation** : C'est le renouvellement de la validation du procédé en vue de démontrer que les changements introduits dans le procédé/verrerie conformément aux procédures de maîtrise des changements ne comportent aucun risque pour les caractéristiques du procédé et la qualité du produit [23].

3.2.3. Validation des procédés de nettoyage

La validation des procédés de nettoyage dédiés n'est généralement pas nécessaire pour la recherche des résidus de principes actifs. La même approche peut être utilisée pour le nettoyage que pour le nettoyage des zones de production (sol, mur, ...). Les agents de nettoyage doivent être évalués à la fois pour leur compatibilité entre eux et leur efficacité. Pour évaluer la compatibilité, les études doivent être menées pour démontrer que la méthode de nettoyage ne réagit pas avec les surfaces en contact.

Pour évaluer l'efficacité du nettoyage, la méthode doit être mise à l'épreuve avec des types d'organismes variés pour démontrer son objectivité.

La contamination résiduelle doit satisfaire aux limites résiduelles acceptables établies d'une part, pour les résidus de principes actifs et de détergents, et d'autre part pour la contamination microbienne. Ces limites doivent pouvoir être atteintes et vérifiées.

Le plan maître de validation annuel (VMP) définit le planning et la nature des projets de validation des procédés de nettoyage à réaliser ;

- Un plan de validation établit par secteur la stratégie de la validation de nettoyage ;
- Un protocole est élaboré afin de déterminer la mise en œuvre pratique de la validation d'un procédé de nettoyage ;
- Un rapport de validation reprend l'ensemble des résultats obtenus et leur évaluation.

3.2.4. Validation des méthodes analytiques

C'est l'évaluation d'attributs de qualité du produit par des essais, pour démontrer que la fiabilité est maintenue tout au long du cycle de vie du produit et que la précision, l'exactitude, le dosage, la pureté et les spécifications n'ont pas été modifiés.

Ces critères analytiques doivent être validés avant le commencement de tout programme de validation :

- Exactitude de méthode : capacité d'une méthode à mesurer la vraie valeur d'un échantillon.
- Spécificité : capacité de précisément mesurer l'analyse en présence d'autres composants [19].
- Linéarité : la linéarité d'une procédure d'analyse traduit à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existante entre la réponse (signal) et la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon.
- Limite de détection : signal de sortie ou valeur au-dessus de laquelle on peut affirmer avec un niveau de confiance défini par exemple 95 % qu'un échantillon est différent d'un échantillon blanc ne contenant pas l'analyse d'intérêt.
- Limite de quantification : c'est la concentration correspondant à un signal égal à 10 fois l'écart-type des fluctuations du fond. Cette limite est à rapprocher de celle de la LDD (limite de détection) dont le signal correspond à 3 fois l'écart-type des fluctuations du fond.
- Répétabilité (Sr) : représente l'étroitesse de l'accord entre les résultats d'essais indépendants obtenus avec la même méthode, sur un même échantillon homogène, dans le même laboratoire, par le même opérateur utilisant le même matériel et dans un court intervalle de temps.

- La reproductibilité (SR) : c'est la variabilité aléatoire des résultats de plusieurs déterminations d'un même échantillon, effectuées de manière espacée dans le temps, donc dans des conditions expérimentales qui peuvent être légèrement différentes [24].

4. Nettoyage

4.1. Définition

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

Autrement dit, le nettoyage est « un processus d'élimination, et non d'étalement, des déchets et des contaminants particuliers, biologiques et chimiques généralement générés par l'activité elle-même (personnel, processus, produit) et déposés sur une surface » [25].

Norme AFNOR 50-109 définit le nettoyage comme une « opération qui consiste à éliminer d'une surface donnée, toute souillure visible ou invisible s'y trouver » [26].

4.2. Les 10 principes du nettoyage à respecter

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

1. Le processus de nettoyage doit être compatible avec les activités de production et avec la classe d'air du local de production (matériels qualifiés et moyens adaptés).
2. Les surfaces à nettoyer ne doivent pas être altérées par le processus de nettoyage (limiter l'abrasivité du procédé de nettoyage, compatibilité des détergents avec les matériaux à nettoyer).
3. Le nettoyage ne doit pas diluer ou étaler la souillure sur les surfaces.
4. Le nettoyage ne doit pas apporter de contamination supplémentaire.
5. Le nettoyage ne doit pas être un vecteur de contamination par transfert de contaminants d'une zone vers une autre.
6. Le procédé de nettoyage doit commencer dans la zone la plus critique (qui est la plus sensible à la contamination) pour se terminer dans la zone la moins critique.
7. Le procédé de nettoyage doit se dérouler de la zone la plus sale vers la zone la moins sale (cependant, si ce principe est en contradiction avec le principe 6, le principe 6 est prioritaire).
8. Il faut réaliser le nettoyage d'une zone dans le sens des flux d'air.

9. Le processus de nettoyage doit correspondre strictement au mode opératoire décrit dans une procédure, il doit être appliqué par du personnel habilité avec des moyens qualifiés.

10. Il faut toujours respecter les règles de sécurité lors des opérations de nettoyage pour limiter les risques pour l'opérateur, les risques pour le médicament et les risques pour l'environnement [27].

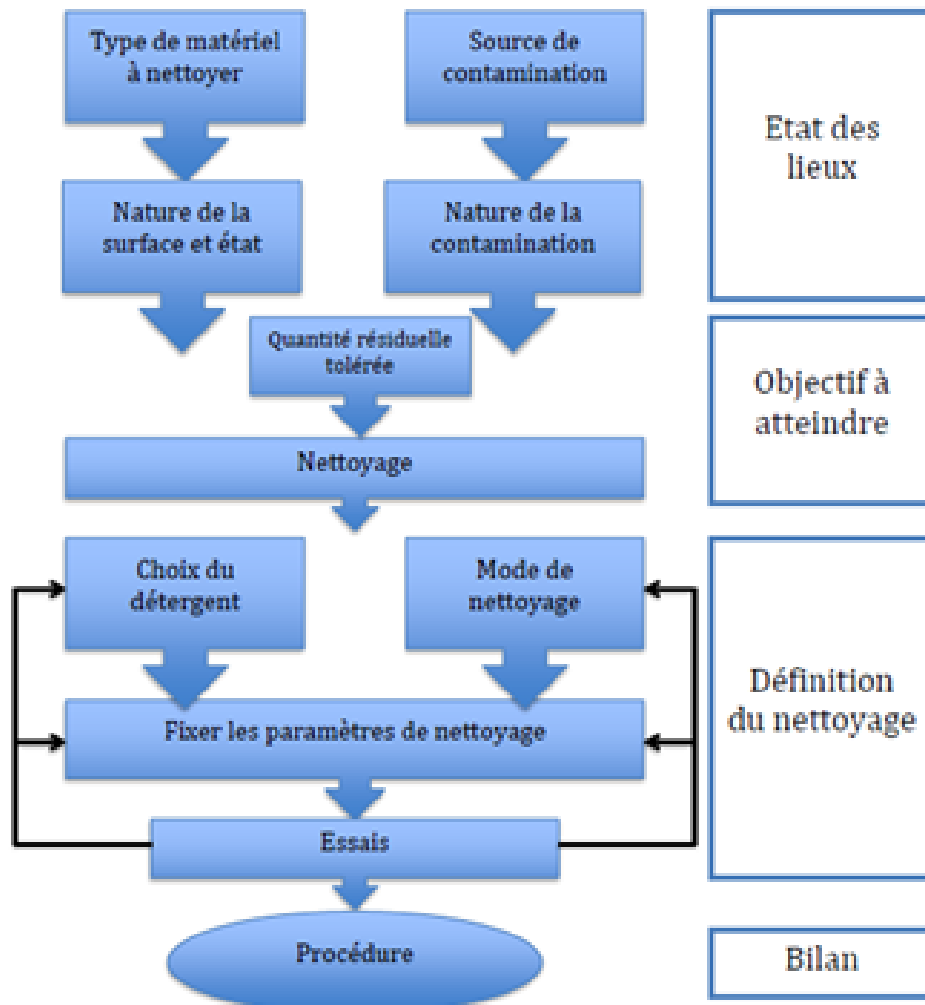


Figure 4 : Schéma de synthèse de la conception d'une procédure de nettoyage.

4.3. Méthodes de nettoyage

Il existe une forte tendance à réduire au maximum l'intervention de l'homme lors des nettoyages afin de minimiser le contact avec des produits dangereux et nocifs, mais également afin de pallier au manque de reproductibilité des nettoyages manuels.

Trois types de nettoyages existent :

- **Le nettoyage manuel** : consiste en une élimination des résidus par une action mécanique couplée ou non à l'action chimique de produits comme les détergents et les désinfectants.

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.

L'efficacité de ce type de nettoyage est assurée par la bonne application par l'opérateur des procédures de nettoyage.

-**Le nettoyage semi-automatique** : n'implique que très peu l'opérateur. Il s'agit d'une succession d'opérations manuelles et automatiques ; le nettoyage par machines à laver industrielles en est le meilleur exemple.

-**Le nettoyage automatique** : ce type de nettoyage ne nécessite aucune intervention humaine, il est réalisé par aspersion ou recirculation des fluides, et ne nécessite aucun démontage du matériel.

L'enchaînement des opérations s'effectue dans des conditions prédéterminées. Ce type de nettoyage assure la meilleure reproductibilité mais requiert des installations lourdes et coûteuses

Tableau 1 : Comparaison du nettoyage automatique avec le nettoyage manuel [28].

Paramètres	Nettoyage manuel	Nettoyage automatique
Temps	Rapide Temps de latence entre les étapes peut varier.	Temps élevé Temps de latence mieux contrôlé.
Force	Force élevée. Difficile à quantifier. Non uniforme. Difficilement reproductible.	Force selon le besoin. Difficile à quantifier. Uniforme et reproductible.
Concentration	Faible : risque pour le personnel. Détergent peu toxique.	Formules plus agressives.
Température	Non contrôlée + risque variable.	Elevée. Mieux contrôlée.

4.4. Paramètres influençant le nettoyage

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

- **L'action chimique**

L'action chimique est produite par l'utilisation d'un détergent quand c'est nécessaire. Le détergent permet de réduire les traces de contaminant au-dessous de la limite acceptable. Cette action dépend du produit choisi, de son dosage et de la qualité de l'eau utilisée.

- **L'action mécanique**

L'action mécanique joue un rôle important et peut être matérialisée par les frottements, l'abrasivité des matériaux de nettoyage (lingettes, microfibras), la distance du jet, l'angle d'impact. Elle permet de renouveler la solution de nettoyage en contact avec la surface à nettoyer et faciliter ainsi la dispersion de la souillure dans la solution détergente.

- **L'action de la température**

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

- **L'action du temps**

Les durées de l'action chimique, ce qui correspond au temps de contact entre le produit détergent et les surfaces à nettoyer et la durée de l'action mécanique, sont majeures.

L'action combinée de ces quatre facteurs est appelée le « cercle de Sinner », représenté sur la figure 4.

L'efficacité du nettoyage dépend de l'équilibre entre les 4 facteurs qui représente la règle du T.A.C.T. Si pour une raison particulière, il faut diminuer la proportion de l'un des facteurs, il faudra compenser en augmentant la proportion d'un des trois autres facteurs pour conserver une efficacité du nettoyage.

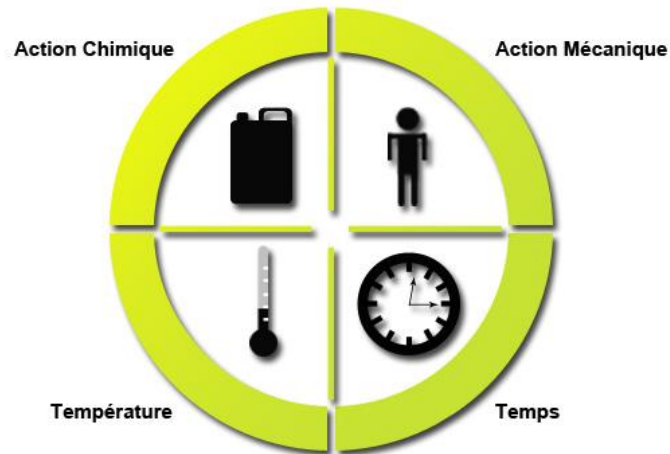


Figure 5 : Le cercle de Sinner [29].

4.5. Choix du détergent

La norme ISO 862 définit le détergent comme « produit dont la composition est spécialement étudiée pour le nettoyage selon un processus mettant en œuvre les phénomènes de détergence. Un détergent comprend de composants essentiels (agents de surface) et généralement des composants complémentaires (adjuvants, etc.) » [30].

Le détergent doit pouvoir répondre aux critères suivants :

- Nature et état des souillures

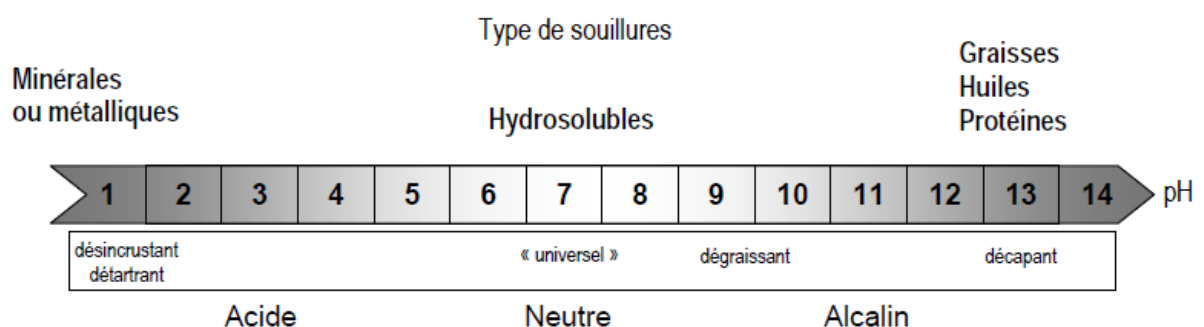


Figure6 : Choix du détergent en fonction de la souillure [31].

•**Nature du matériel** ou du support : aucune altération du matériel ne doit avoir lieu.

Le maintien de l'intégrité de la surface est le facteur critique (en particulier pour les joints et les appareils de mesure).

•**Qualité de l'eau utilisée** : L'eau joue un double rôle dans le nettoyage puisqu'elle sert d'agent de dilution et de rinçage. Le détergent doit être facilement et rapidement soluble dans l'eau mais également facilement rinçable. La dureté de l'eau peut également influencer l'efficacité du détergent.

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

•**Toxicité** : un détergent doit être, d'une part, le moins toxique possible pour le personnel et d'autre part le plus respectueux possible pour l'environnement.

•**L'efficacité du détergent** : il faut éviter au maximum de multiplier les étapes de nettoyage. Un détergent doit avoir un bon pouvoir mouillant, émulsionnant, anti-redéposition. Il doit aussi être stable à des températures élevées. Le rinçage de ce détergent et son élimination devront être aisés.

• **DéTECTABLE** : un bon détergent doit pouvoir être dosable à de faibles concentrations. Ce paramètre est requis dans le cas de la validation du nettoyage [32].

4.6. Choix de la verrerie

Les laboratoires utilisent divers matériaux, proposant tous des caractéristiques différentes. Le choix des matériaux pour un processus est soit du domaine de responsabilité du personnel qualifié du laboratoire, soit il est documenté et réglé de manière obligatoire dans une instruction de travail par le responsable de la qualité [33].

Pour la validation de nettoyage de la verrerie, des matériaux difficilement nettoyable sont utilisés par le personnel responsable parmi ces matériaux on cite quelques verreries.

- **Pipettes**

Les pipettes sont des appareils de volumétrie en règle générale calibré pour écouler "Ex" permettant de mesurer des quantités de liquide. Elles sont mesurées volumétriquement lors du processus de fabrication et portent un ou plusieurs traits de jauge.

On distingue en règle générale les types de pipettes suivants : pipettes jaugées et pipettes graduées ainsi que pipettes capillaires allant jusqu'à 200 µl.

- **Poire pour pipetage**

Auxiliaire de pipetage standard classique pour les pipettes jaugées et les pipettes graduées.

- **Fioles jaugées**

Les fioles jaugées sont des appareils de volumétrie calibré pour contenir "In", qui servent en particulier pour préparer des solutions exactes, comme par ex. solutions étalons et standards, et dissolutions.

- **Eprouvettes bouchées et graduées**

Les éprouvettes graduées sont des appareils de volumétrie calibré pour contenir "In" qui servent en particulier pour la mesure exacte de liquide.

L'éprouvette bouchée est une éprouvette graduée calibrée pour contenir "In" à col rodé et avec bouchon en matière plastique [34].

- **Vials HPLC**

Les Vials pour HPLC sont des flacons en verre blanc ou verre brun, avec ou sans zone de marquage , Bouchons avec septum silicone, prépercés ou non [35].

4.7. Rinçage

Le rinçage est une opération qui élimine avec de l'eau les particules qui adhèrent faiblement à la surface des équipements.

Plusieurs types de rinçage sont à considérer :

- **Le pré-rinçage** : effectué entre la fin de la production et le nettoyage proprement dit, élimine la majorité de la matière organique restant dans l'équipement.
- **Le rinçage intermédiaire** : effectué entre différentes étapes de nettoyage désinfection, assure l'élimination plus ou moins complète d'un détergent présent dans l'équipement
- **Le rinçage final** : destiné à laisser l'équipement dans un état de propreté satisfaisant pour permettre la reprise de la production. Ce rinçage doit éliminer avec l'eau purifiée, toutes les traces de produits chimiques ou désinfectants restant dans l'équipement [36].

5. La validation de nettoyage

Le guide des bonnes pratiques de fabrication définit la validation de nettoyage comme une « Preuve documentée qu'une procédure de nettoyage approuvée fournira des équipements adaptés à la fabrication des médicaments » [20].

Valider un procédé de nettoyage c'est démontrer scientifiquement, de manière documentée que les différentes étapes de nettoyage, conduisent à obtenir une surface ne comportant pas de contaminants résiduels supérieurs à une limite préalablement fixée et ceci de manière reproductible [37].

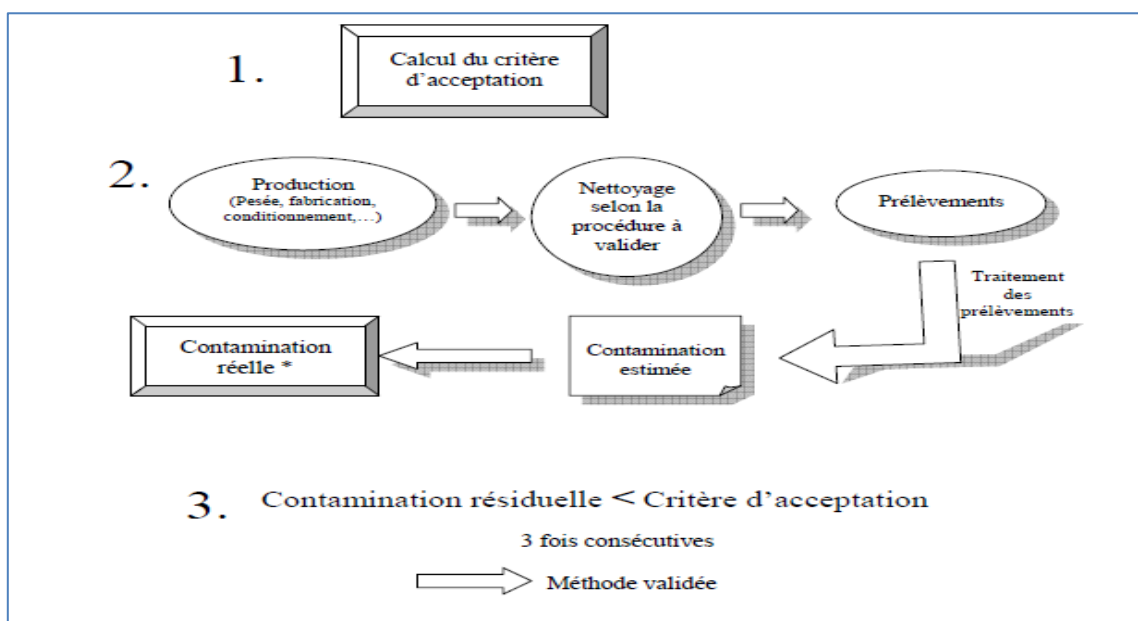


Figure 7 : principe de Validation de Nettoyage [16].

5.1. Stratégies de la validation du nettoyage

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

- **Valider quoi ?** Seules les procédures de nettoyage applicables aux surfaces de la verrerie en contact avec les produits doivent être validées [38].
- **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 [38,39].
- **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 [38].

5.2. Critères d'acceptation

Il n'existe pas d'exigences réglementaires des critères d'acceptation ; Il appartient à chacun de fixer et de justifier ceux qui sont les mieux appropriés à son activité. L'entreprise fixe des limites résiduelles acceptables en interne qui sont basées sur la littérature et sur l'évolution des techniques analytiques. Les critères les plus employés aujourd'hui sont ceux du visuellement propre et le critère des 10 ppm.

- **Critère du Visuellement propre**

Avant que les études de validation de nettoyage ne soient mises en place, la méthode du visuellement était la seule méthode existante. Elle est toujours utilisée aujourd'hui mais elle est intégrée dans les programmes de validation de nettoyage. Il se définit comme l'obtention d'un équipement exempt de traces repérables à l'œil nu après le nettoyage.

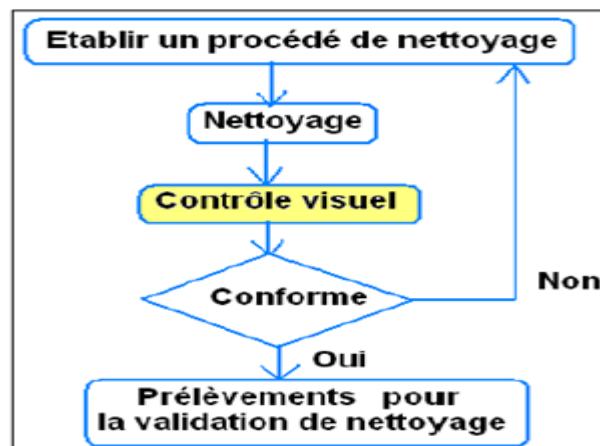


Figure 8 : place du contrôle visuel dans les essais de VN.

- **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 [40].

5.3. Méthodes de prélèvement

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 [41].

5.3.1. Type de prélèvement

1. 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...

2. 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.

3. 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.
- Ces trois méthodes ont toutes des avantages et des inconvénients, les critères de choix pour l'une ou l'autre de ces méthodes figureront dans le plan maître [42].

4. Prélèvements microbiologiques : Ce type de prélèvements est réalisé selon deux méthodes :

- L'application de géloses contacts sur une surface pendant un temps déterminé,
- L'écouvillonnage à l'aide d'un bâtonnet spécifique plongé dans un bouillon de culture.

Les échantillons sont ensuite placés à l'étuve, puis le nombre de colonies bactériennes qui ont poussé sont comptabilisées [41].

6. 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 [43].

6.1. Analyses microbiologiques

Pour l'analyse microbiologique, il existe des méthodes décrites par 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) [3].

La plus utilisée dans ce cas est la filtration sur membrane.

- **Filtration sur membrane**

C'est un système de filtration sous vide utilisé pour la concentration des micro-organismes à partir de volumes d'échantillons importants sur la surface de la membrane filtrante. La culture des germes s'effectue sur des milieux de culture.

Ce système de filtration c'est un système modulaire spécialement conçu pour l'analyse de résidus et le dénombrement des colonies dans le contrôle microbiologique de la qualité. Les rampes de filtration à trois postes sont utilisées pour un nombre élevé de filtration [44].

6.2. 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 2 : Avantages, Inconvénients et Applications des différentes méthodes d'analyse [45].

Avantages	Inconvénients	Applications
Observation des caractères organoleptiques		
Simple Résultat immédiat Non invasif Pas de préparation d'échantillon	Qualitatif Non spécifique	Résidus chimiques Excipients Agent de nettoyage
Mesure du Ph		

Rapide Peu coûteux Peut être adapté à la surveillance en ligne.	Non spécifique Pour composés solubles dans l'eau.	Agent de nettoyage
Résistivité / Conductivité		
Rapide Peut être adapté à la surveillance en ligne.	Non spécifique	Agent de nettoyage
Dosage Acide / Base		
Quantification précise Seuil de détection Satisfaisant	Non spécifique	Agent de nettoyage
Perte a la dessiccation		
Spectre large Simple et peu coûteux	Non spécifique	Résidus chimiques Excipients Agents de nettoyage
Spectrophotométrie		
Plus sensible, peu spécifique.	Résidus chimiques	Excipients
CCM (Chromatographie Sur Couche Mince)		
Spécifique Peu coûteux	Sensibilité insuffisante dans certains cas.	Résidus chimiques Excipients
HPLC (Chromatographie En Phase Liquide)		
Spécifique Suffisamment sensible et spécifique. Quantification précise	Appareillage et personnel qualifiés nécessaires Méthode plus coûteuse	Résidus chimiques Excipients
CPG (Chromatographie En Phase Gazeuse)		
Mêmes caractéristiques que la HPLC		Résidus chimiques Excipients Composés volatils
Méthodes Biochimiques		
Spécifiques Seuil de détection adapté Kits de dosage	Coûteux Difficile à valider	Résidus chimiques Excipients
COT (Carbone Organique Total)		
Applicable aux produits organiques et hydrosolubles Haute sensibilité	Non spécifique Appareillage coûteux	Résidus chimiques Excipients Agent nettoyage Protéines

6.2.1. Méthodes non spécifique

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.

Les sels minéraux sont de bons conducteurs alors que la matière organique ne l'est pas. En général, plus la conductivité est élevée, plus il y a de minéraux dissous dans l'eau [46].

- Méthode utilisée pour la recherche des traces de détergent.
- Le résultat est obtenu sur le lieu de prélèvement.
- Résultats immédiats.

- **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. [46].

- 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 [47].

- Lecture directe possible mais quantification moins spécifique.
- Quantification peu spécifique.

6.2.2. 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.

En HPLC, la phase mobile est liquide, et la phase stationnaire solide est contenue dans une colonne. La séparation aura lieu en fonction de différents paramètres qui définissent un type de technique : séparation chirale, échange d'ions, différences de polarité entre ces phases et le composé à éluer [48].

- Méthode qui nécessite un appareil et une main d'œuvre qualifiée qui offre des seuils de détection et une spécificité satisfaisants.

-La quantification est précise et la méthode permet de détecter des produits de dégradation (recherche des traces de principe actif).

-Cependant, la mise en œuvre est longue.

7. Le pire des cas « WORST-CASE »

7.1. 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 [49].

7.2. Détermination du pire des cas

La sélection d'un produit pire des cas est basée sur les paramètres suivants :

- **Solubilité des principes actifs**

L'évaluation de ce critère doit être effectuée sur la base de la solubilité des substances dans les solvants utilisés pour le nettoyage. Le produit avec des composants actifs peu solubles pourrait être choisi comme produit « worst case ».

- **Difficulté de 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. On fait des entretiens avec les opérateurs et les superviseurs. Une fiche normalisée de questions pourrait être utilisée dans laquelle les

réponses sont notées. Les substances difficiles à nettoyer sont identifiées. La difficulté de nettoyage pourrait être évaluée en fonction de trois catégories proposées ci-après :

- Catégorie 1 : nettoyage facile.
- Catégorie 2 : nettoyage moyen.
- Catégorie 3 : nettoyage difficile.

- **Toxicité du principe actif**

Le troisième type de choix est basé sur la toxicité ou l'activité du traceur. Le facteur permettant de choisir le traceur est la dose thérapeutique minimale pour un principe actif et la

NOEL ((No Observed Effect Level) : $NOEL = DL50 \times 5 \times 10^{-4}$ en mg/kg) pour un excipient. Ces valeurs devront bien sûr être exprimées dans la même unité [16].

Selon les valeurs de solubilité, de nettoyabilité et de toxicité, un tableau récapitulatif est établi.

Tableau 3 : Récapitulatif des caractéristiques des différents produits.

Principe actif	Toxicité DL 50 (mg/kg)	Note toxicité	Solubilité aqueus (mg/ml)	Note solubilité aqueuse	Nettoyabilité	Note nettoyabilité	Note globale
A	200	2	2000	1	Facile	2	4
B	1470	3	13	2	Facile	2	12
C	1980	3	770	2	Facile	2	12
D	1087	3	5	2	Facile	2	12
E	325	4	0.2	3	Facile	2	24

Ce tableau permettra ensuite de réaliser un classement par criticité des produits. En cas d'égalité, le produit ayant la DL50 la plus élevée sera choisi en priorité, vient ensuite le critère de nettoyabilité puis la solubilité aqueuse.

8. 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.

8.1. Le protocole de validation

Le protocole est écrit en accord avec la procédure générale de validation. Il est établi préalablement à la validation et doit préciser :

- Champ d'application de la validation,
- Définition des produits, procédés et équipements,
- Définition des limites d'acceptation,
- Choix des points de prélèvement
- Sélection des méthodes de prélèvement (surface, rinçage...),
- Identification des méthodes analytiques,
- Détermination du rendement de récupération,
- Choix des temps critiques (durée avant nettoyage, durée de péremption...),
- Mode opératoire avec la description des tests à réaliser,
- Responsabilité
- Planning [50].

8.2. 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 [51].

**MATERIEL
ET
METHODES**

Dans le cadre de notre stage de fin d'étude, on a pu participer à un projet de validation de nettoyage au sein du laboratoire de contrôle qualité du groupe pharmaceutique LMD.

Le groupe LDM est né du désir de ses fondateurs de construire une entreprise compétitive et réussie. C'est une entreprise familiale fondée par les frères ELAMMOUCHI, Mohamed Ahmed et Mouloud en 1997.

«Confiance, loyauté et respect pour les partenaires». Fidèle aux nouvelles demandes dans un monde de production de drogue hautement efficace et en constante évolution en Algérie, LDM s'engage à contribuer efficacement à l'amélioration de la couverture sanitaire dans le pays; Joindre le savoir-faire étendu à la qualité selon les normes internationales.

Son unité de production est certifiée par le gouvernement algérien, ainsi que par des laboratoires internationaux bien connus.

Différentes forme posologiques sont produites par LDM entre autre la forme sèche , comprimés, capsules.....

Le travail réalisé au sein de ce laboratoire a pour objectif de décrire une méthodologie de validation de nettoyage de la verrerie du laboratoire contrôle qualité en réalisant des analyses physico-chimiques et microbiologies.

1. Principe

Le principe de ce travail est valider un procédé de nettoyage, démontrer de manière scientifique et documentée, les différentes étapes de ce dernier qui nous permettent d'obtenir dans des conditions préétablies une surface qui ne comporte pas de contamination résiduelle supérieure à une limite préalablement fixée, ceci de manière reproductible.

2. Choix du worst case (le pire des cas)

L'intérêt de définir le « pire des cas » est de réduire le nombre d'essais à mettre en œuvre lors de la validation de nettoyage.

Ce produit est déterminé selon différents critères :

- Nettoyabilité
- solubilité
- Toxicité

2.1. 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 4 : Grille de cotation de la nettoyabilité des principes actifs.

Descriptif	Note de critère	Nettoyabilité
Visuellement propre après nettoyage à l'eau sanitaire sans frotter.	10	Très facile
Visuellement propre après nettoyage à l'eau sanitaire en frottant.	20	Facile
Visuellement propre après nettoyage au détergent en frottant.	30	Difficile
Visuellement sale après nettoyage au détergent en frottant.	40	Très difficile

2.2. Solubilité

La solubilité aqueuse est cotée comme décrit ci-dessous.

Tableau 5 : Grille de cotation de la solubilité aqueuse des principes actifs.

Descriptif	Note de criticité	Solubilité
Très facilement soluble à soluble	10	> 1 000 mg/ml
Soluble à assez soluble	20	1- 999 mg/ml
Peu à très peu soluble	30	0,1 – 0,99 mg/ml
Pratiquement insoluble	40	< 0,1 mg/ml

2.3. Toxicité

Au cours de la validation de nettoyage de la verrerie, il n'y a pas de contact entre la verrerie et les principes actifs utilisés dans la production des médicaments et donc pas de toxicité. On conclut que ce paramètre est négligeable.

A partir de ces informations, les produits sont évalués et classifiés du moins critique au plus critique.

La valeur la plus élevée pour un équipement ou une méthode de nettoyage indique le principe actif appelé « worst-case » donc le produit devant supporter la validation.

Ce tableau permettra ensuite de réaliser un classement par criticité des produits.

Tableau 6 : Classification des principes actifs.

Principe actif	Nettoyabilité	Solubilité	Note globale
A	10	10	20
B (VALSARTAN)	40	40	80
C	20	10	30

Les résultats des analyses de trois principes actifs montrent que le VALSARTAN est le pire des cas, parce qu'il a le score le plus élevé.

3. Choix de détergent

Le laboratoire de contrôle qualité de LDM groupe utilisait ISIS comme détergent, mais ce dernier n'est pas un produit certifié, ce qui a fait l'objet d'une recherche d'un nouveau détergent qui possède un certificat d'analyse et une méthode de nettoyage bien définie.

En effet, en achetant les produits de chez ANIOS, ils ont proposé plusieurs produits équivalant à nos besoins. Le produit choisi est **HEXANIOS G + R**.

➤ **HEXANIOS G + R**

Ce détergent est un produit de référence commercialisé depuis 1992. C'est un nettoyant et un pré-désinfectant des instruments et des dispositifs chirurgicaux et médicaux, des instruments thermosensibles, matériel d'endoscopie et dans le cas général de l'instrumentation souillée. Avec son pH neutre (environ 7), il est compatible avec tout type de

matériau, métaux inoxydables, verre et matières plastiques (voir fiche technique du détergent en Annexes 2).

Le produit choisi est un détergent possède des caractéristiques qui répondent aux exigences suivantes :

- Vaste spectre d'utilisation.
- Utilisation économique.
- Ne laisse aucun résidu après rinçage
- Composition qualitative, certificat d'analyse, fiche de sécurité et la méthode de dosage.

4. Choix de la verrerie

La verrerie faisant objet de cette étude est celle dont la géométrie est celle dont son nettoyage est difficile.

- On a choisis des vials (100 vials) ;
- Des pipettes de 1 ml ;
- Un bac remplis de différente verrerie pour les recherches non spécifiques (Fioles jaugées, Erlen Meyers, Béchers, Eprouvettes graduées, Ampoules à Décanter, Pipettes jaugées et graduées, Flacons en verres, Ballons, Tubes à essai, pour centrifugation, et d'agrégation, Mortiers, Entonnoirs, Récipients à grand volume, Creusets, Sabots de pesées, Spatules, Cuves pour CCM.....).
- On a choisis des fioles jaugées de 25 ml à col rétréci, pour la recherche spécifique.

5. Méthode de validation de nettoyage de la verrerie de laboratoire

La méthode de validation du nettoyage de la verrerie est divisée en 2 parties : recherche de traces de détergent et recherche du principe actif.

5.1. Nettoyage manuel

Le nettoyage manuel est effectué à température ambiante et sans assistance mécanique avec un processus de rinçage non normalisé, le choix du produit nettoyant approprié revête aussi une grande importance.

C'est la règle du T.A.C.T qui s'applique :

- Température 37°C.
- Action réalisée par l'opérateur.
- Concentration de détergent 0,5%.

- Temps 15 min.

- **Étapes de nettoyage manuel**

Après utilisation, le contenu de la verrerie est vidé dans un récipient de rejet approprié et identifié. Ensuite un rinçage est fait abondamment avec l'eau de robinet (eau brute). La verrerie est mise le plus rapidement possible dans un bain de trempage rempli préalablement avec la solution de nettoyage (Hexanios G + R 0,5 % V/V) afin d'éviter l'incrustation de résidus séchés, le bain de trempage doit être fermé.

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

Pour la verrerie à fermeture (fioles jaugées, flacons, tubes à essai ...), le nettoyage est effectué en remplissant environ 10 % du volume de cette dernière par la solution de nettoyage. La verrerie est fermée et agitée manuellement pendant 30 secondes. S'il reste des résidus visibles sur les parois internes de la verrerie ; l'opération doit être refaite en mettant l'objet dans un bain à ultrasons pendant 10 minutes, ou en utilisant un goupillon adapté.

Pour la verrerie sans fermeture (béchers, Éprouvettes, Erlenmeyer, ...), la solution de nettoyage est utilisée à 10 % du volume de la verrerie. A l'aide d'un carré de vaisselle ou une brosse type goupillon (adapté à chaque type de récipient), essuyer les parois internes puis externes du récipient.

Pour les pipettes, elles sont immergées dans une éprouvette remplie de la solution de nettoyage à 0,5% V/V pendant 15 minutes, puis aspirer et inspirer deux à trois fois à l'aide d'une poire, et s'il reste des résidus visibles sur les parois internes, les pipettes sont mises sous pression d'eau de robinet chaude et rincer.

Les vials pour 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.

5.2. Prélèvements réalisés

Les prélèvements sont effectués à partir des eaux de rinçage pour la recherche des traces non spécifiques (les traces des contaminants chimiques et des contaminants

microbiologiques), ainsi que pour les traces spécifiques (la recherche de trace de worst case « VALSARTAN PA ») ou pour la recherche de traces du détergent.

- **Plan de prélèvement**

Pour chaque échantillon, trois répliques ont été effectuées.

Tableau 7 : Plan de prélèvement.

La recherche	Point de prélèvement	Dates de prélèvements		
		1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai
Trace des contaminants chimiques	100 vials nettoyés	20 /03/2017	21/03/2017	26/03/2017
	3 pipettes de 1ml nettoyées			
	Un bac remplis de diverse verrerie nettoyée			
Trace des contaminants microbiologiques	3 pipettes de 1ml nettoyées	02/04/2017	03/04/2017	03/04/2017
	Un bac remplis de diverse verrerie nettoyée			
Des traces de VALSARTAN PA	Fioles de 25ml dosées de 20mg PA	28/03/2017	28/03/2017	28/03/2017
	Fioles de 25ml dosées de 500mg PA			
Trace de détergents par bandelettes	100 vials nettoyés	20 /03/2017	21/03/2017	26/03/2017
	3 pipettes de 1ml nettoyées	20 /03/2017 et	21/03/2017 et	26/03/2017 et
	Un bac remplis de diverse verrerie nettoyée	02/04/2017	03/04/2017	03/04/2017
Trace de détergent par coloration	Fioles de 25 ml nettoyées	28/03/2017	28/03/2017	28/03/2017

6. Méthodologie analytique de recherche de traces de contaminants

6.1. Méthodes non spécifiques

La verrerie est pratiquement utilisée dans toutes les analyses au laboratoire de contrôle qualité tant pour le contrôle des matières premières que pour les produits finis. Compte tenu du nombre important de composés pouvant contaminer la verrerie (principes actifs, excipients, produits de dégradation, réactifs...), la méthode de recherche de traces doit avoir un caractère non spécifique et permettra de détecter un grand nombre de composés.

La recherche de traces de contaminant est faite indirectement par la mesure des paramètres physicochimiques dans les eaux de rinçage comparativement à l'eau purifiée.

Ces paramètres sont : la conductivité, les substances oxydables, pH des eaux de rinçage, un balayage par UV visible, et dénombrements des germes aérobies (par filtration) pour la recherche des contaminants microbiens.

6.1.1. Mesure de la conductivité

La conductivité des eaux de rinçage est mesurée à l'aide d'un conductimètre (JENWAY) à 20°C.



6.1.2. Mesure du pH

Le pH des eaux de rinçage est mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Seven multi, METTER TOLEDO) à électrode préalablement étalonné à température ambiante.



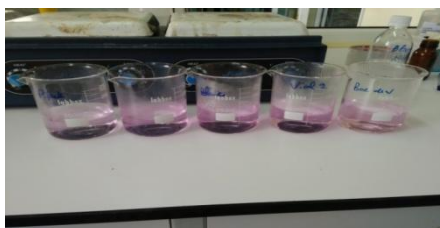
6.1.3. Un balayage de spectre UV visible

Le balayage se fait par spectrophotomètre (JASCO) à UV visible de l'eau de rinçage à une longueur d'onde comprise entre 200 et 400 nm.



6.1.4. Substances oxydables

Afin de mettre en évidence les substances oxydables, un mélange de 100 ml d'eau de rinçage, 10 ml d'acide sulfurique dilué et de 0,1 ml de permanganate de potassium 0,01 M est chauffé à ébullition sur une plaque chauffante (LabTech . multi-position) pendant 5 min. La couleur rose signifie l'absence de ces substances oxydables. En effet, le changement de couleur vers le transparent signifie leur présence.



6.1.5. Recherche des contaminants microbiens

La recherche des contaminants microbiens se fait par filtration sur membrane. Cette filtration est faite à l'aide d'une rampe de filtration (Sartorius Comisart) stérilisable à travers une membrane filtrante stérile en nitrate de cellulose 0,45 μm de porosité. La manipulation est réalisée sous hotte à flux laminaire équipée d'un bec benzène.

Cette méthode consiste à installer la rampe de filtration par flambage. Après avoir stériliser une pince, cette dernière est utilisée pour retirer le filtre de son emballage et le placer dans la rampe. 10 ml de l'échantillon d'eau à analyser sont versés à l'aide d'une pipette. Ensuite le robinet de la rampe est ouvert et la filtration se fait à l'aide d'une pompe sous vide.

Après filtration, le filtre est récupéré et déposé sur boîte de pétri contenant un milieu **R2A** (voir composition chimique en annexes) tout en évitant la formation de bulles d'air entre le filtre et le milieu de culture.

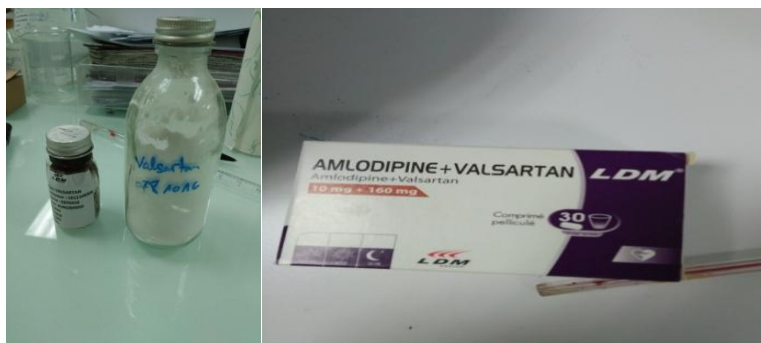
L'incubation des boîtes de pétri inversées s'est faite à une température entre 30 et 35°C pendant 5 jours.



Figure 9 : Etapes de la filtration sur membrane.

6.2. Méthode spécifique

La méthode spécifique consiste à la recherche des traces de worst case « VALSARTAN PA » dans les eaux de rinçage. Ce principe actif est choisi en raison de son insolubilité dans l'eau et donc la difficulté de son nettoyage.



6.2.1. Recherche de traces de VALSARTAN par HPLC.

La chromatographie liquide à haute pression est utilisée afin de détecter les traces du VALSARTAN dans l'eau de rinçage. Les analyses sont faites à température ambiante sur une colonne de type X terra RP-18, 3.9x150 mm (Waters e 2695), 5 μ m en phase inverse. La détection se fait par un détecteur UV à une longueur de 273nm. Les différents éléments sont reliés à un micro-ordinateur qui permet de piloter automatiquement les différents composants du système.

Chaque échantillon est injecté à la dose 10 μ l puis élué à un débit de 1,0 mL/min par un mélange tampon phosphate pH 2,8 : acétonitrile HPLC (50 : 50).

6.2.1.1. Solution essai

La méthode consiste à contaminer 06 fioles jaugée de 25 ml avec le VALSARTAN. 20 mg de ce médicament sont introduits dans 3 fioles jaugées de 25 ml, et 50 mg dans les 3 fioles restantes. 15 ml de méthanol grade HPLC sont ajoutés. Les fioles sont par la suite mises dans l'ultrason pendant 5 min.

Après refroidissement, le volume est complété jusqu'au trait de jauge avec le méthanol, ensuite les fioles sont bien mélangées et vidées. Enfin, les fioles sont nettoyées suivant les étapes décrites précédemment.

Solution standard

La solution standard est préparée de la même façon que la solution essai. A la fin de la préparation, une dilution de 1/5 dans la phase mobile est faite. La concentration finale de VALSARTAN égale à 160 μ g/ml.

Validation du système

- Injecter 5 fois 10 µl de la solution standard et déterminer le RSD (répétabilité du standard)
- Enregistrer le chromatogramme et déterminer les paramètres suivants :

RSD entre les injections (%): $\leq 2\%$

Procédure

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

Injecter trois (3) fois 10 µl de la solution essai.

Calculer le pourcentage (%) de **VALSARTAN** en utilisant la formule suivante :

$$\text{Valsartan \%} = \frac{H_{\text{essai}}}{H_{\text{std}}} \times \frac{C_{\text{std}}}{C_{\text{essai}}} \times \frac{t_s}{100} \times \frac{100-LOD}{100}$$

Dans laquelle :

H_{essai} = Hauteur moyenne du pic de **VALSARTAN** dans la solution **essai**.

H_{std} = Hauteur moyenne du pic de **VALSARTAN** dans la solution **standard**.

C_{std} = Concentration de la solution **standard**.

C_{essai} = Concentration de la solution **essai**

t_s = Titre du standard en (%).

LOD = Perte à la **dessiccation du standard**.

6.3. Recherche de trace du détergent

La recherche des traces du détergent s'est effectuée par deux méthodes.

6.3.1. Recherche de traces d'HEXANIOS G+R

La première méthode consiste à la recherche du détergent dans les eaux de rinçage, en milieu biphasique et en présence de bleu de bromophénol utilisé comme indicateur.

➤ Solutions nécessaires

- Indicateur coloré : Bleu de bromophénol à 0,1%.
- Solution tampon pH 11 carbonate de sodium (0,06M)/ sulfate disodique (0,7M).
- Chloroforme pour analyses.

➤ **Mode opératoire**

Tubes	A : témoin	B : échantillon	C : étalon
Chloroforme	2 ml	2 ml	2 ml
Tampon pH=11	1 ml	1 ml	1 ml
Indicateur coloré	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes
Eau de dilution	10 ml	0 ml	0 ml
Eau rinçage	0 ml	10	0 ml
Hexanios G+R à 0,5%	0 ml	0 ml	10 ml

Tableau 8 : Les critères d'acceptation pour la Recherche de traces d'HEXANIOS G+R

Tubes	A	C
Coloration phase supérieure	Violette	Violette
Coloration phase inférieure	Aucune	Bleue

La coloration du tube B doit être identique à celle du tube A. Dans le cas contraire, poursuivre le rinçage jusqu'à décoloration de la phase chloroformique inférieure.

Seuil de détection : environ 3 ppm de matière active.

6.3.2. Recherche de traces d'ammoniums quaternaires dans les eaux de rinçage

La deuxième méthode de recherche du détergent consiste à utiliser les bandelettes MERCK (réf. : MERCKOQUANT , lot : 337622 , Composés d'ammoniums quaternaires, 10 à 500 ppm).



Mode opératoire

L'eau de rinçage à analyser est prélevée dans un récipient propre. Ensuite, une bandelette est trempée dans cette eau pendant 5 secondes puis égouttée sur du papier absorbant. Après 15 secondes, l'observation est faite en comparant la coloration de la bandelette avec l'échelle de couleur figurant sur la boîte. La bandelette témoin est trempée dans de l'eau de réseau.

- Le seuil de détection est de 10 ppm (mg/L) d'ammonium quaternaire.

Tableau 9 : Les critères d'acceptation pour les bandelettes.

Gamme étalon de la boîte	Quantité d'ammoniums quaternaires (mg/L = ppm)	
	0 à 10 ppm	25 à 500 ppm
Opération de rinçage	Conforme	Non conforme Poursuivre le rinçage

7. Critères d'acceptation

Dans ce protocole on retiendra trois critères

7.1. Critère visuel

La verrerie doit être visuellement propre et sec. Aucun résidu ne doit être visible sur la verrerie (faces interne et externe) une fois que le nettoyage est achevé.

Si ce critère n'est pas acceptable, aucun prélèvement pour analyses de validation de nettoyage ne sera effectué.

7.2. Méthode non spécifique : Critère absorbance échantillon/absorbance du blanc

- **Conductivité** : La conductivité des eaux de rinçages doit être inférieure ou égale à $4,3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, à 20°C
- **PH** : ≥ 5 et ≤ 7 .
- **Balayage UV visible** : $< 0,05$.
- **Substances oxydables** : La solution doit rester légèrement rose.
- **Recherche contaminants microbiologiques** : Dénombrement de germes ≤ 100 UFC/ml.

7.3. Méthode spécifique : Critère d'acceptation pour le principe actif

- Les critères d'acceptation sont calculés suivant la règle du $1/1000^{\text{ème}}$ et la règle de 10 ppm décrites ci-après.
- Par conséquent, le critère d'acceptation appliqué est celui qui est le plus sévère parmi l'ensemble des critères d'acceptation calculés pour tous les produits en contact avec un équipement et nettoyés selon une même méthode de nettoyage.

➤ Règle du $1/1000^{\text{ème}}$

- Le critère d'acceptation suivant la règle du $1/1000$ est calculé à partir des données pharmacologiques du principe actif recherché et à partir des données concernant le lot suivant.
- La quantité maximale de principe actif A (MACO) exprimée en mg qui peut être présente dans un lot de produit B est donnée par la formule suivante :

$$\text{MACO: } \frac{1}{1000} \times \frac{\text{DTM}(\text{PA})\text{A} \times \text{TML B}}{\text{DTNJ B}}$$

Le critère d'acceptation (CA) exprimé en mg/ml est donné par la formule :

$$\text{CA: } \frac{1}{1000} \times \frac{\text{DTM}(\text{PA})\text{A} \times \text{TML B} \times 0.001}{\text{DTNJ B} \times S}$$

D'où :

$$\text{CA} = \frac{1}{1000} \times \frac{75 \times 0.001 \times \text{TML B}}{S \times \text{DTNJ B}}$$

$$CA = \frac{1}{1000} \times \frac{75 \times 0.001}{25} \times 32000$$

Et donc :

$$CA = 0,096 \text{ mg/ml}$$

Avec :

- **MACO**: Maximum allowable carry over: quantité maximale admissible.
- **CA** : Critère d'Acceptation.
- **DTM (PA) A** : Dose thérapeutique minimale du principe actif A en mg.
- **TML B*** : Taille minimale du lot B (unités).
- **DTNJ B** : Dose thérapeutique normale journalière de B (unités).
- **S** : Volume de la fiole.

***TML B** peut être le produit qui a le rapport **taille de lot/dose thérapeutique normale journalière** le plus faible.

➤ **Règle du 10 ppm :**

- Le critère d'acceptation suivant la règle du 10 ppm est calculé à partir des données concernant le lot suivant.
- La quantité maximale de principe actif A, exprimée en mg qui peut être présente dans un lot de produit B ne doit pas excéder 10 ppm (mg/ml). Elle est calculée par la formule suivante :

$$MACO \text{ ppm} = \frac{10 \times MUP B TML B}{1000 000}$$

Ce critère d'acceptation (CA) exprimé en mg/volume de la fiole est donné par la formule suivante :

$$CA \text{ ppm} = \frac{10 \times MUP B TML B}{1000 000} \times \frac{0.001}{s}$$

D'où,

$$CA = \frac{10 \times 574 \times 192\,000}{1\,000\,000} \times \frac{0.001}{25}$$

Et donc :

CA = 0,044 mg/ml

Comme décrit ; il convient d'appliquer le critère d'acceptation le plus sévère parmi ceux qui sont calculés. Par conséquent, on considérera le CA = 0,044 mg/ml.

MACO/Volume : $0,044/30\text{ml} = 0,0015\text{mg}$.

**RESULTATS
ET
DISCUSSION**

1. Paramètres vérifiés

- **Inspection visuelle** : de chaque verrerie nettoyée.
- **Recherche des traces non spécifiques** :
 - **Les traces des contaminants chimiques** : conductivité, pH, balayage par spectre UV et recherche des substances oxydables.
 - **Recherche des contaminants Microbiologique.**
- **La recherche des traces du VALSARTAN PA.**
- **La recherche de trace de détergent** :
 - Détection de trace d'HEXANIOS G+R.
 - Détection les traces d'ammoniums quaternaires.

2. Critère d'acceptation

Tableau 10 : Différents types de test et les critères d'acceptation

Type de test	Critères d'acceptation
Inspection visuelle	Absence des résidus détectables à l'œil nu.
Conductivité	4,3 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, à 20°C.
pH	≥ 5 et ≤ 7
Substances Oxydables	La solution doit rester légèrement rose
Balayage par spectre UV visible	<0,05
Test de recherche de contamination microbiologique	≤ 100 UFC/ml
Test de recherche des traces VALSARTAN PA	≤ 0.0015 mg/ml
Détection de trace d'HEXANIOS G+R	Coloration phase supérieure ; Violette Coloration phase inférieure ; Incolore
Détection les traces d'ammonium quaternaire	<10 ppm (mg/L).

3. Les Analyses

3.1. Inspection visuelle

L'inspection visuelle de la verrerie nettoyée montre que cette dernière est propre avec absence des résidus détectables. Dans le cas où un contrôle visuel serait non conforme, il faut re-nettoyer la pièce en question.

3.2. Recherche des traces non spécifiques

3.2.1. Traces des contaminants chimiques

- **Conductivité**

Le résultat des mesures de la conductivité des eaux de rinçage sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Résultats des mesures de la conductivité.

La recherche	Point de prélèvement	Résultats ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, à 20°C)			Conclusion
		1 ^{ier} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	
Trace des contaminants chimiques	Blanc	1,12	0,95	1,6	Conforme
	100 vials	2,82	1,88	2,84	Conforme
	3 pipettes de 1ml	1,60	1,16	1,52	Conforme

Ces résultats montrent que toutes les valeurs de la conductivité des eaux de rinçage varient d'un minimum de $0,95 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ à un maximum de $2,84 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, ce qui est conforme aux critères d'acceptation. ($4,3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Baricault** (2014) avec une valeur de $2,10 \mu\text{S}/\text{cm}$ qui ont fait un nettoyage avec un détergent de la même marque (ANIOS).

- **pH**

Le résultat des mesures de la PH des eaux de rinçage sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Résultats des mesures du pH.

La recherche	Point de prélèvement	Résultats			Conclusion
		1 ^{ier} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	
Trace des contaminants	Blanc	6,02	6,19	5,06	Conforme
	100 vials	5,74	5,89	5,79	Conforme

chimiques	3 pipettes de 1ml	7,07	6,10	5,58	Conforme
	verrerie diverse	6,20	6,02	5,68	Conforme

Toutes les valeurs du pH des eaux de rinçage varient entre 5,74 et 7,07. On est dans l'intervalle de critères d'acceptation (≥ 5 et ≤ 7) donc les résultats sont conformes.

Ces valeurs sont inférieures à celles trouvés par **Baricault** (2014) avec une valeur de 7,9 en utilisant le Kophanios Maxi Plonge comme détergent (ANIOS).

- **Substances Oxydables**

La détection des substances oxydables dans l'eau de rinçage est effectuée en présence du bleu de bromophénol comme indicateur de couleur. Les résultats montrent que pour tous les essais, les solutions sont de couleur légèrement rose.



Tableau 13 : Résultats de la recherche des substances oxydables.

La recherche	Point de prélèvement	Résultats (solutions légèrement roses)		
		1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai
Trace des contaminants chimiques	Blanc	Conforme	Conforme	Conforme
	100 vials	Conforme	Conforme	Conforme
	3 pipettes de 1ml	Conforme	Conforme	Conforme
	diverse verrerie	Conforme	Conforme	Conforme

Ces résultats montrent que dans tous les essais la couleur des eaux de rinçage analysée reste légèrement rose ce qui est conforme par rapport aux de critères d'acceptation. On peut conclure que la méthode adaptée est efficace et il n'y a pas besoin de refaire le nettoyage.

- **Balayage de spectre UV visible**

Le balayage de spectre UV visible est effectué à des longueurs d'onde comprises entre 200 et 400 nm (figures 9, 10, 11, et 12).

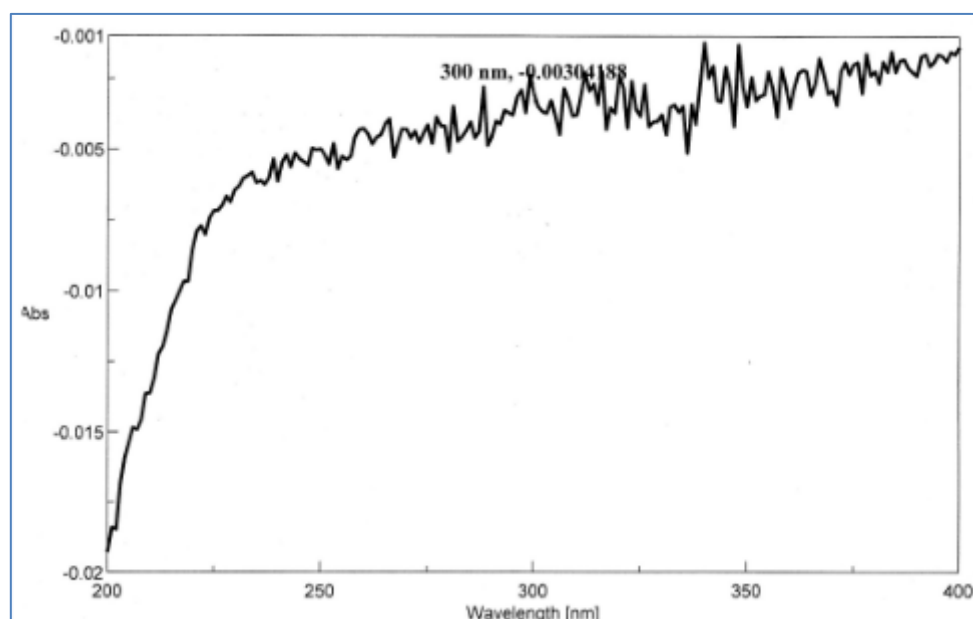


Figure 10 : spectre d'absorption de l'eau de rinçage (blanc).

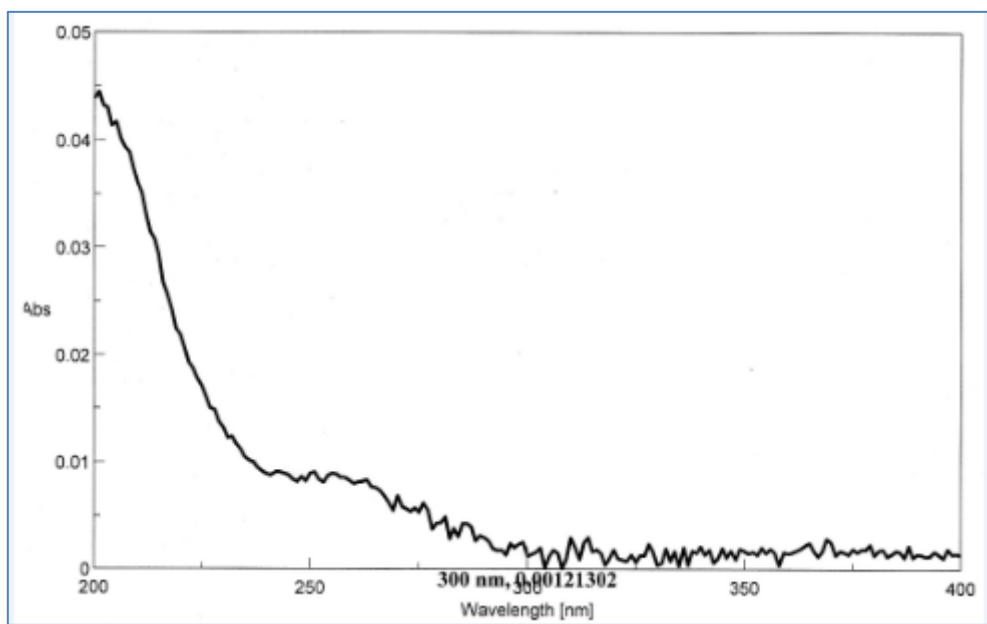


Figure 11 : Spectre d'absorption d'eau de rinçage (cas de verrerie diverse)

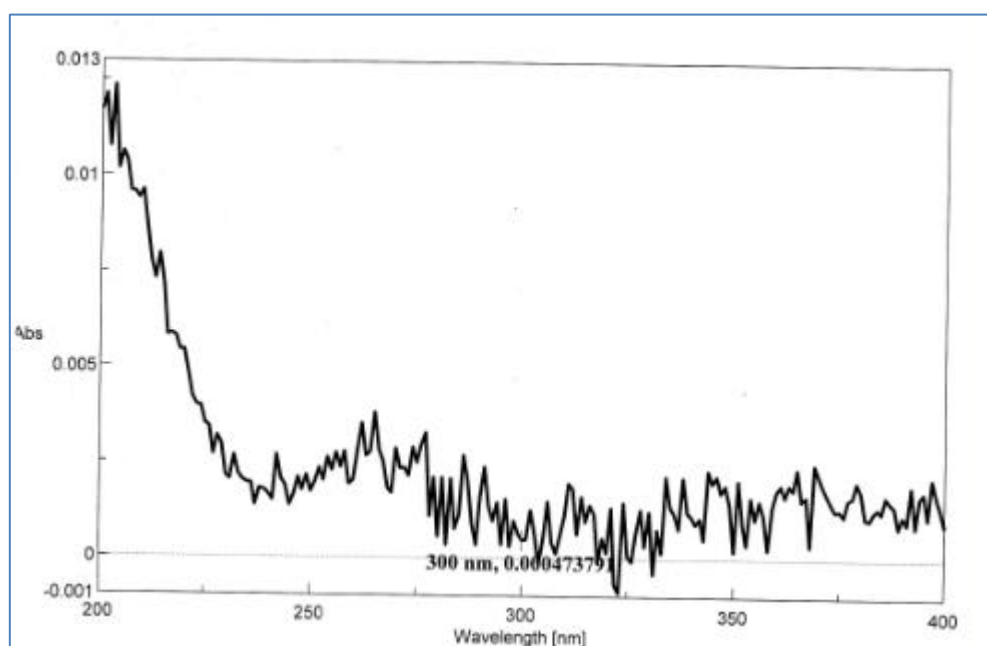


Figure 12 : Spectre d'absorption de l'eau de rinçage des pipettes

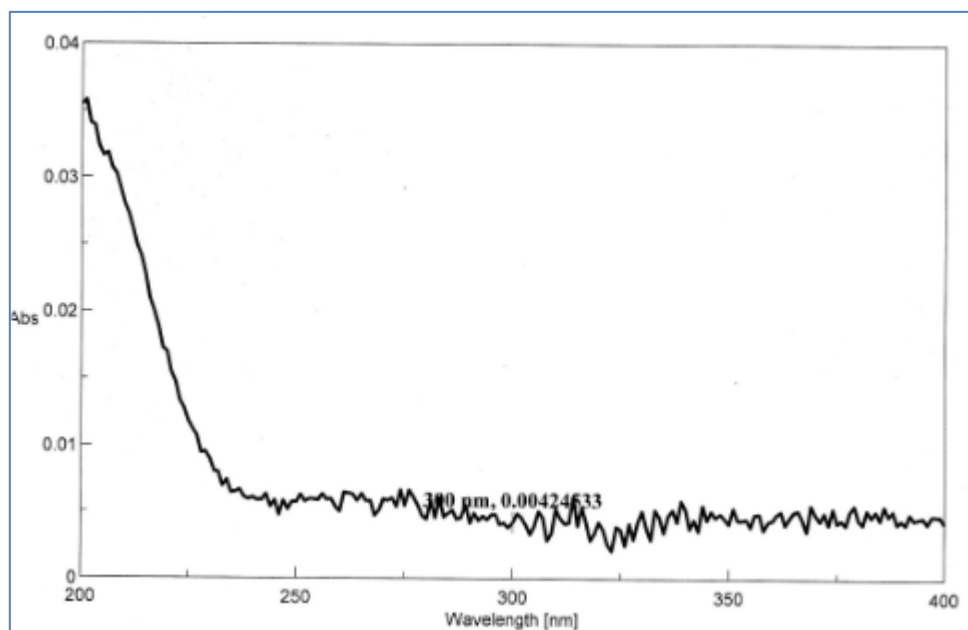


Figure 13 : Spectre d'absorption de l'eau de rinçage des vials

Tous les spectres obtenus par cette analyse ne dépassent pas la valeur de 0,05. D'après ces valeurs, on constate que le résultat est conforme aux critères d'acceptation.

Tableau 14 : Résultats du balayage de spectre UV visible.

La recherche	Point de prélèvement	Résultats (<0,05)		
		1 ^{ier} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai
Trace des contaminants chimiques	Blanc	Conforme	Conforme	Conforme
	100 vials	Conforme	Conforme	Conforme
	3 pipettes de 1ml	Conforme	Conforme	Conforme
	diverse verrerie	Conforme	Conforme	Conforme

3.2.2. La recherche des contaminants Microbiologique

- Filtration sur membrane

Le dénombrement des microorganismes aérobies viables totaux dans les eaux de rinçage est effectué sur le milieu gélosé R2A.

L'observation des boîtes de pétri est faite après incubation du filtre à 30°C pendant 5 jour.

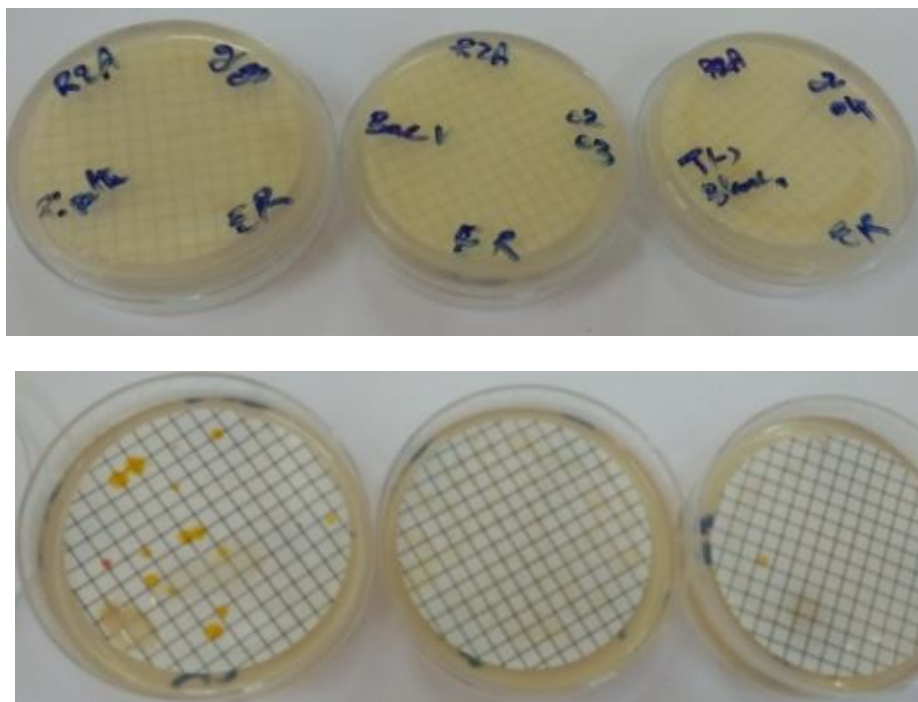


Figure14 : Dénombrement des microorganismes viables dans les eaux de rinçage par méthode de filtration sur membrane

Dans l'analyse microbiologique des eaux de rinçage et après lecture à l'aide d'un compteur de colonies, le nombre de colonies sur la membrane de filtration est inférieur à 100 UFC/ml et ce dans tous les essais. Ces résultats répondent aux critères d'acceptations (tableau 13).

Tableau 15 : Résultats de la filtration sur membrane.

La recherche	Point de prélèvement	Résultats (UFC/10ml)			Conclusion
		1 ^{ier} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	
Trace des contaminants microbiologiques	Témoin (-)	25	78		Conforme
	3 pipettes de 1ml	70	83	166	Conforme
	verrerie diverse	46	184	142	Conforme

3.3. Recherche des traces non spécifiques

• Recherche des traces du VALSARTAN par HPLC

Les traces du VALSARTAN sont mises en évidence par chromatographie liquide à haute pression.

Nous D'après les résultats trouves, 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 avec la formule des $10 \text{ ppm} \leq 0.0015\text{mg/ml}$ donc les résultats sont conformes et ce pour les deux dosages du principe actif (tableau 15 et 16).

Les résultats de l'HPLC figurent ci-dessous.

Tableau 16 : Résultats de la recherche de trace VALSARTAN 20 mg par HPLC.

DOSAGE VALSARTAN _20mg								
E	H ESSAI	H STD	P STD	P ESSAI	T% STD	LOD	DOS%	DOS mg /ml
E1	13	124380	20,1	20,4	99,68	0,88	2,03497E-05	1,64046E-07
	11	124380	20,1	20,4	99,68	0,88	1,7219E-05	1,38808E-07
E2	20	124380	20,1	20	99,68	0,88	3,19334E-05	2,57426E-07
	11	124380	20,1	20	99,68	0,88	1,75634E-05	1,41584E-07
E3	12	124380	20,1	20,5	99,68	0,88	1,86927E-05	1,50688E-07
	8	124380	20,1	20,5	99,68	0,88	1,24618E-05	1,00459E-07
Conclusion : Tous les essais sont conformes								

Tableau 17 : Résultats de la recherche de trace VALSARTAN 50mg par HPLC.

DOSAGE VALSARTAN _50 mg								
E	H ESSAI	H STD	P STD	P ESSAI	T% STD	LOD	DOS %	DOS mg /ml
E1	52	124380	20,1	501,6	99,68	0,88	3,31048E-06	6,67172E-05
	80	124380	20,1	501,6	99,68	0,88	5,09304E-06	1,02642E-04
E2	12	124380	20,1	501,6	99,68	0,88	7,63956E-07	1,53963E-05
	10	124380	20,1	501,6	99,68	0,88	6,3663E-07	1,28302E-05
E3	17	124380	20,1	500	99,68	0,88	1,08573E-06	2,18812E-05
	4	124380	20,1	500	99,68	0,88	2,55467E-07	5,14852E-06
Conclusion : Tous les essais sont conformes								

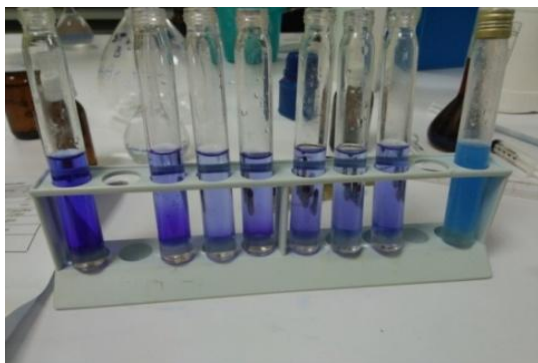
On a choisis la règle des 10 ppm comme critères d'acceptation parce que :

$$CA = 0,044 \text{ mg/ml} \leq CA = 0,096 \text{ mg/ml.}$$

D'après les résultats, on constate que la hauteur des pics des solutions essaies et donc la concentration du principe actif est largement inférieure à celle des solutions standards du VALSARTAN 20 mg et ce pour les deux dosages utilisés lors de la contamination par ce dernier (20 et 50 mg).

3.4. La recherche de trace de détergent

3.4.1. Détection des traces d'HEXANIOS G+R



A partir des résultats, on constate qu'il y a deux phases distinctes, une phase inférieure chloroformique incolore et une phase supérieure de couleur violette.

Tableau 18 : Résultats de la recherche de trace d'HEXANIOS G+R.

La recherche	Point de prélèvement	Lecture	Résultats		
			1 ^{ère} fiole	2 ^{ème} fiole	3 ^{ème} fiole
Trace d'HEXANIOS G+R	A : Témoin	Coloration phase supérieure ; Violette Coloration phase inférieure ; Incolore	NA	NA	NA
	Fioles de 25ml dosées de 20mg PA	Coloration phase supérieure ; Violette Coloration phase inférieure ; Incolore	Conforme	Conforme	Conforme
	Fioles de 25 ml dosées de 50 mg PA	Coloration phase supérieure ; Violette Coloration phase inférieure ; Incolore	Conforme	Conforme	Conforme
	C : Etalon	Coloration phase supérieure ; Violette Coloration phase inférieure ; Bleue	NA	NA	NA

Les résultats sont conformes aux critères d'acceptation vue la coloration des tubes :

Coloration phase supérieure : Violette/ Violette.

Coloration phase inférieure : Aucune/Bleu.

3.4.2. Détection les traces d'ammonium quaternaire

La deuxième méthode pour mettre en évidence la présence du détergent est la détection des traces d'ammonium quaternaire.

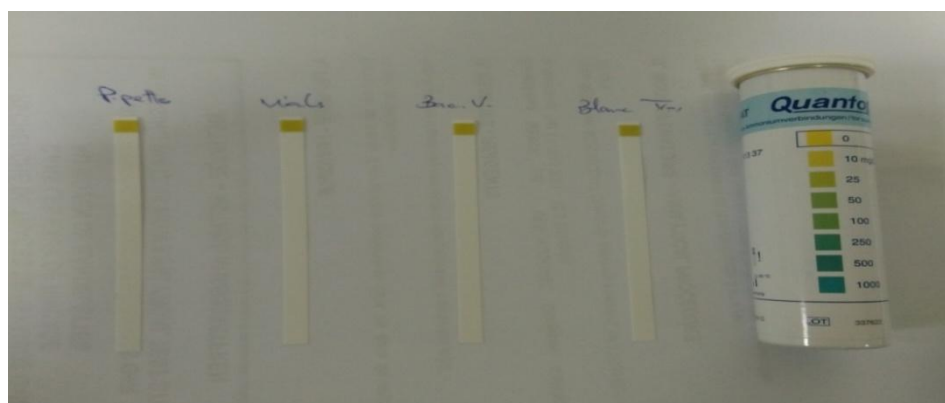


Figure 15 : Résultats de l'utilisation des bandelettes MERCK.

Le résultat de la recherche des traces d'ammonium quaternaires sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 19: Résultats de la recherche de trace d'ammoniums quaternaires

La recherche	Point de prélèvement	Résultats		
		1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai
Trace d'ammoniums quaternaires	100 vials	Conforme	Conforme	Conforme
	3 pipettes de 1ml	Conforme	Conforme	Conforme
	verrerie diverse	Conforme	Conforme	Conforme

Ces résultats montrent que la couleur des bandelettes sont identiques à celle représentés sur la boîte précisément en numéro 10 qui signifie l'absence des traces d'ammoniums quaternaires donc les résultats sont conformes aux critères d'acceptations.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Conclusion

La validation de nettoyage est un vaste sujet qui a une grande importance au sein de l'industrie pharmaceutique. Pour répondre aux exigences de santé publique, les entreprises réalisent des validations de nettoyage.

Le cas de la validation du nettoyage de la verrerie dans le laboratoire de contrôle qualité de LDM groupe, illustre la mise en place de cette méthodologie de validation.

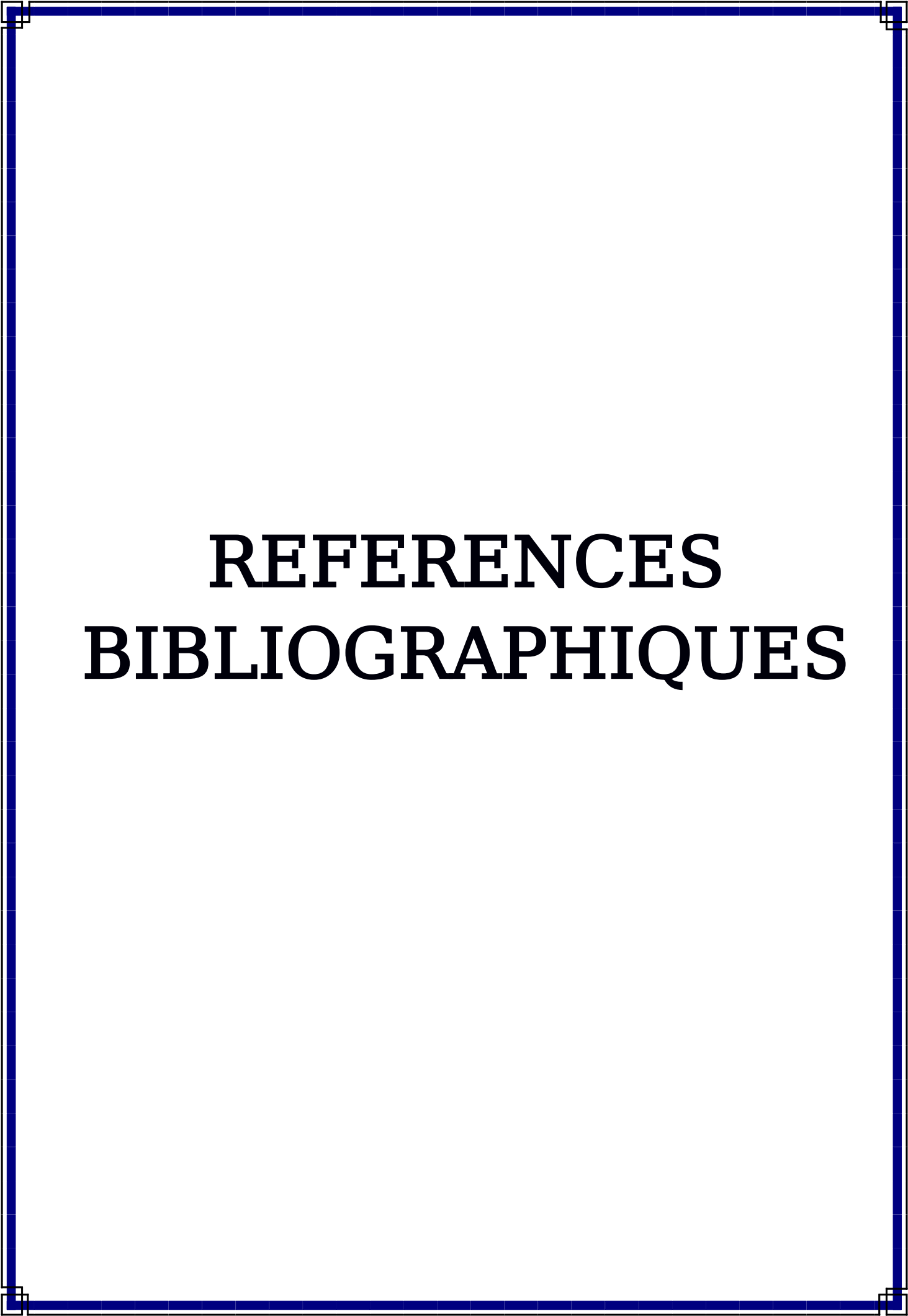
Les analyses physico-chimiques réalisées sur les eaux de rinçage entre autre la conductivité (comprise entre $0,95 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ et $2,84 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), les substances oxydables, pH (entre 5,74 et 7,07), le balayage de spectre par UV visible (avec des valeurs comprises entre 0,001 et 0,045) ont donné des valeurs bien inférieures à celle indiquées dans la littérature.

D'autre part nous avons constaté que le nombre de microorganismes viables dans les eaux de rinçage après dénombrement par méthode de filtration sur membrane est inférieur à 100 UFC/ml.

Les résultats obtenus montrent que les analyses effectuées sur les eaux de rinçage du matériel utilisé sont conforme aux critères d'acceptation et ce pour tous les essais.

A la lumière des résultats obtenus dans notre étude, nous pouvons conclure que la méthode de nettoyage de la verrerie par la méthode décrite dans ce protocole est validée et peut être utilisée d'une façon reproductible dans le laboratoire de contrôle qualité à LDM groupe.

Ce travail constitue une première approche pour la validation dans cette entreprise, en effet la validation de nettoyage des outils de prélèvement et des équipements du laboratoire est aussi nécessaire.



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

References Bibliographiques

[1] : Article L5111-1, Code de la Santé Publique, version en vigueur consolidée au 01 aout 2014

[2] : Lechat. Ph ., Pharmacologie - Service de pharmacologie clinique ., Université Pierre et Marie Curie., faculté de médecine ., 2006-2007

[3] : Conte. L ., validation des procédés de nettoyage : application a un cas concret dans l'industrie pharmaceutique ., thèse de doctorat en pharmacie ., 27 juin 2003

[4] : Christophe. P , président., Ooreka . 2015-2016 , Disponible sur :

< <https://qualite.ooreka.fr/comprendre/norme-iso> >

[5] : Agnès Labrousse., « Une industrie normée ? Gouvernement par les normes, jeu sur les normes et internationalisation des chaînes de valeur dans le secteur pharmaceutique », Économie et institutions ., 18-19 | 2012, mis en ligne le 01 février 2013

[6] : Pluyette. J ., Hygiène et sécurité lois et textes réglementaires. 16ème édition. Paris ISBN copyright technique et documentation., 1982

[7] : Leyral. G, Verling. E ., Microbiologie et toxicologie des aliments Hygiène et sécurité alimentaire . 4eme Edition. Paris : Doin éditeurs., 2007

[8] : Témoignage de Bernadette. R., afnor normalisation., Disponible sur :

< <http://www.afnor.org> >

[9] : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé(ANSM)., 1^{er} mai 2012 Disponible sur :

< [http://ansm.sante.fr/Activites/Pharmacopee/Qu-est-ce-que-la-Pharmacopee/\(offset\)/0](http://ansm.sante.fr/Activites/Pharmacopee/Qu-est-ce-que-la-Pharmacopee/(offset)/0) >

[10] : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé(ANSM).,

Bonne pratique de fabrication Décision et annexe du 04 /12/ 2013

[11] : Dr Boudendouna. A., Département de Pharmacie galénique., Faculté de Médecine., université d'Alger1 ., 2016.

[12] : Organisme français de certification (O.F.C)., 2003Disponible sur :

< <https://www.ofcertification.fr/qualite> >

[13] : Gorgeu. A., Mathieu. R (Chargée de recherche au Centre d'Études de l'Emploi), L'«Assurance Qualité fournisseur » de l'industrie automobile française ., 1996

[14] : Dr Ghebreyesus. T.A .,Organisation mondiale de la santé (Oms), Disponible sur :

< http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/fr/ >

[15] : Bonne pratique de laboratoire., Lncpp /Cecomed .,2010.

[16] : Bolzan. C ., la validation de nettoyage en industrie pharmaceutique : validation des prérequis , principe et application au cas particulier d'une centrale de pesées., thèse de doctorate., université henripoincare – NANCY 1 ., faculté pharmacie ., 09 Décembre 2008.

[17]: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé(ANSM),

Bonne Pratiques de Fabrication .,Version 2014/1 bis

[18] : Sliwinski. F., Le nettoyage., un élément majeur de l'assurance qualité : techniques et validation., Th D Pharm., Lille.,1995

[19] : Bruhl. C ., validation du nettoyage des équipement de production : méthodologie générale et exemple rétrospectif., thèse de doctorat en pharmacie ., Chatenay –Malabry:

Université de paris XI., 2001 ., page 112.

[20] : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS),

Guide des bonnes pratiques de fabrication., bulletin officielle n°2007 / 1 bis.,

[21] : Laban. F, Cauwet. M , Champault. V, Dampfhofer. P . R , Delestre. E, Detoc. S et al.,

Glossaire de la validation., STP Pharma pratique 1997., page 398 – 400 .

[22] : Tangri P, Rawat Prakash. S , Jakhmola. V, Laksh. M., validation : a critical parameter for quality control of pharmaceuticals., review article., Journal of Drug Delivery & Therapeutics; 2012, 2(3): 34-40., 15may 2012

[23] : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS), Ligne directrice 15 : qualification et validation .,bonnes pratiques de fabrication., Bulletin Officiel .N° 2009/9 bis

[24] : Aitbouh. H , Zahry. F , Bounakhla. M , Said. S., Validation interne des méthodes d'analyse par SAA et application sur les éléments (Cr, Pb, Fe, Zn Mn et Cu)., les technologies de laboratoire., 2014 ., Volume 8, N°36

[25] : Auray. S ., Groupe poly m2, entretien sanitaire haute technologie., Procédures de nettoyage des surfaces d'environnements pharmaceutiques A3P Canada .,Novembre 2004

[26] : Giraultt. M.J ., La validation : Un outil essentiel dans la culture Qualité., STP Pharma Pratiques 1997., page 346-348

[27] : Le nettoyage en salle propre, guide, méthodes et bonnes pratiques. Document réalisé pour le guide de l'ultra propreté, Bureau de la connaissance des marchés industriels, 5e édition, 2005

[28] : Dublin , Ireland ., Cleaning Validation and Critical Cleaning Processes., Conference Proceedings – IVT.,June 19-20 2002

[29] : Dandjinou. M , Lille ., Validation de Nettoyage : Enjeux et Mise en place., Diplôme d'État de docteur en pharmacie., Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques., 2012

[30] : Verghese. G ., Selecting and validating detergents for CIP Applications- An Overview..., STERIS Corporation., Novembre 2006.

[31]: Laban. F , Cauwet. M , Champault. V , Dampfhofer. P.R , Delestre. E , Detoc. S et al., Validation of Cleaning procedures., S.T.P. Pharma Pratiques .,1997.,7 (2) 87-127. Oki schéma

[32] : Bailly. M., stratégie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique., université Claude Bernard– NANCY 1 2008 ., faculté pharmacie .,19 mai 2004

[33] : Dr Weigert , Aklab., Traitement de la verrerie de laboratoire - Traitement sûr et sans résidus de la verrerie de laboratoire.

[34] : Gmbh. B ., Travailler ., Informations sur la mesure de volumes avec des appareils de laboratoire – un manuel.

[34] : Verre Labo Mula - Soufflage de verre et matériel de laboratoire. Disponible sur :

< <http://www.verre-labo.com> >

[36] : Leclercq Perlat. M .N , Tissier. J.P , Leveau. J.Y, Mescle. J.F , Bouix. M , Benezech. T , Bousser. C , Bitner. M , Catonne. J.C , Tournier. R , Lalande. M , Remy Zusatz, Montlahuc. G, Gillet. A , Criquelion. J, Durand. F , Olivier. F , Rauwel. G , Sabat. F , Vincent. J ,Kessler. H. G ,Bellon Fontaine. M.N , Vernhet.A , Lavielle. L ., Nettoyage ,Désinfection Et Hygiène Dans Les Bioindustries, 1999.

[37] : Laban. F ., Bonnes pratiques de nettoyage., A3P Maroc., Juin 2005

- [38] Commission européenne., Groupe de travail sur le contrôle de médicaments et les inspections., Intitulé Qualification et Validation .,Version finale de l'annexe 15 du guide communautaire des bonnes pratiques de fabrication. 2001.
- [39] : Food and Drug Administration (FDA)., Guide to Inspections of Validation of Cleaning Processes., 1993.
- [40] : Fourman. G.L , Mullen. M.V ., Determining cleaning validation acceptance limits pharmaceutical manufacturing operations., Pharm., Tech. April 1993
- [41] : Demartini. A.M ., La validation du nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : application _a un laveur de verrerie dans un laboratoire de contrôle ., Université de Bordeaux U.F.R. des sciences pharmaceutique ., 2014
- [42] : Laban. F ., Consultants ;Cahier Pratique. ,Stratégie de validation des procédés de nettoyage des équipements de production en industrie pharmaceutique ., A3P
- [43] : Laban. F , Bousquet-Bedu. M , Albadine. J , Barbu. M, Bonvarlet .M.N , Collart. M et al .,Méthodes de prélèvement et méthodes analytiques pour le contrôle et/ou la validation de nettoyage., S.T.P Pharma Pratiques., 2006 Mai/Juin
- [44] : Sartorius. S.A ., Contrôle microbiologique des denrées alimentaires, des boissons et des produits pharmaceutiques., France
- [45] : Laban. F, Cauwet. M , Champault. V , Dampfhofer. P.R , Delestre. E, Detoc. S , Durand. F, Girault. M.J , Grillet, A.Loret, C.Martin-Delory, P.Michel, C.Nivet, A.Picaut, E.Prevoist, M.Sarradin, R. de la Tour, P.Trotemann, J.Willems., Validation des procédés de nettoyage : Rapport d'une commission SFSTP., S.T.P. Pharma pratiques 6 (1) 5-40.,1996
- [46] : Exerteau ., Analyse d'eau – Analyse physico-chimique ., disponible sur : < <http://experteau.com/services/analyse-physico-chimique.php> >
- [47] : Axe " Génie des Procédés", centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne., Méthode spectrométriques d'analyse et de caractérisation., page 15
- [48] : Pharmacopée Européenne 8eme édition ., Monographie 2.2.46 Techniques de séparation Chromatographiques

Références Bibliographiques

[49] : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS)., Ligne directrice 15 : qualification et validation .bonnes pratiques de fabrication. Bulletin Officiel .N° 2009/9 *bis*

[50] : Elissondo. B., La validation des procédés., un défi méthodologique Info pharma Magazine., n 4 Septembre Octobre 2003

[51] : Tanu. C , Deves. P ., Validation des nettoyage – stages formation professionnelle., IFIS2012

ANNEXES

Annexe 1 : Définition.....

Annexe 2 : Fiche technique du HEXANIOS G+R

Annexe 3 : Méthode de recherche de traces d'HEXANIOS G+R dans les eaux de rinçage.....

Annexe 4 : Méthode de recherche de traces d'HEXANIOS G+R dans les eaux de rinçage
au moyen de bandelette

Annexe 5 : Fiche technique de milieu R2A.

Annexe 6 : Les chromatogramme des eau de rinçage.....

Annexe 1 : Définitions

L'ISO : est un organisme international de normalisation. Il regroupe des représentants de 162 Etats membres, qui élaborent des normes afin d'aider les entreprises dans leur gestion, et de faciliter les échanges commerciaux.

L'AFNOR : est une agence française qui effectue plusieurs missions : - Rédaction de la stratégie normative nationale, - Coordination et orientation de l'activité de normalisation en France, - Organisation d'enquêtes publiques et de débats, - Délivrance des marques NF et AFAQ (Association Française pour l'Assurance de la Qualité) L'AFNOR édite ainsi des normes qui couvrent pratiquement tous les domaines.

Nettoyage : Action de séparer et d'éliminer des souillures généralement visibles d'une surface. L'objectif à atteindre est du domaine de la propreté visuelle.

Souillure : Apport indésirable, en surface et/ou à l'intérieur d'un matériau, altérant certains caractères d'aspect des surfaces propres et/ou présentant un risque de contamination pour l'activité protégée. (Norme NF T 73-000/NF EN ISO 862).

L'eau purifiée en vrac : est préparée par distillation , par échange d'ions , par osmose inverse ou par tout autre procédé approprié à partir d'une eau destinée à la consommation humaine comme établi par l'Autorité compétente.

L'eau purifiée en vrac est conservée et distribuée dans des conditions visant à empêcher la croissance de microorganismes et à éviter autre contamination.

Validation : confirmation par l'examen et l'apport de preuves objectives du fait que les prescriptions particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies (ISO

17025)

Validation du nettoyage : preuve documentée qu'une procédure de nettoyage approuvée fournira des équipements adaptés à la fabrication de médicaments.

DL 50 : Les lettres DL désignent la « dose létale ». La DL 50 est la quantité d'une matière, administrée en une seule fois, qui cause la mort de 50 % (la moitié) d'un groupe d'animaux d'essai. La DL 50 est une façon de mesurer le potentiel toxique à court terme (toxicité aiguë) d'une matière.

Annexe 2 : Fiche technique du HEXANIOS G+R



- Produit de référence commercialisé depuis 1992.
- pH neutre : Compatible avec tout type de matériau
- Compatible avec les métaux inoxydables, verre et matières plastiques (polycarbonates, ...)
- Spectre antimicrobien en 15 minutes (Actif sur B.K., HIV-1, HBV, HCV)
- Concentration d'emploi : 0,5 %
- Produit référencé dans la Liste positive S.F.H.H.

**PRODUIT
A DILUER**
25 ml → 5L



INDICATIONS

- Nettoyage et pré-désinfection des instruments chirurgicaux et médicaux, des dispositifs médicaux, des instruments thermosensibles et du matériel d'endoscopie.
- Ramassage de l'instrumentation souillée.

CARACTERISTIQUES

- Solution limpide de couleur bleue.
- Validation du couple HEXANIOS G+R / STERANIOS 2% ou ANIOXYDE 1000 pour le traitement manuel des endoscopes (BIOTECH GERMANDE).
- Non corrosif vis-à-vis de l'instrumentation (norme NF S 94 402-1).
- Utilisable en bacs à ultra-sons.
- pH du produit à dilution : environ 7.
- Stabilité physico-chimique jusque +70°C.

HEXANIOS G+R

Détergent pré-désinfectant de l'instrumentation

MODE D'EMPLOI



- 

Dilution à 0,5 % :
Verser une dose de 25 ml pour 5 litres d'eau froide ou tiède.
Renouveler le bain de trempage au moins une fois par jour.
- 

Immerger complètement le dispositif médical.
Temps de trempage conseillé : 15 min.
Brosser si nécessaire.
Pour le matériel endoscopique : double nettoyage : 10 et 5 minutes.
Ecouillonner
- 

Rincer soigneusement le dispositif médical à l'eau de réseau (bonne qualité microbiologique).
Pour le matériel endoscopique : extérieur et intérieur.
- 

Essuyer avec un champ propre. Passer à l'étape suivante (voir protocole interne à l'établissement).

COMPOSITION QUALITATIVE

Chlorure de didécyl diméthyl ammonium, polyhexaméthylène biguanide, complexes détergents (alcool gras polyalcoylé, oxyde de lauryl diméthylamine), agent séquestrant et dispersant, parfum et colorant.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

Dangereux. Respecter les précautions d'emploi (établies selon la Directive 99/45/CE et ses adaptations).
Stockage : de +5°C à +35°C.

PROPRIETES MICROBIOLOGIQUES

Actif sur	Normes	Temps de contact
Bactéries	EN 1040, EN 13727, NF T 72-171 SARM (EN 13727), NF T 72-190, T 72-300 (A. baumannii)	5 minutes 15 minutes
	Mycobacterium tuberculosis (B.K.)	15 minutes
Levures / Moisissures	EN 1275 (Candida albicans), EN 13624	5 minutes
Virus	HIV-1, HBV	10 minutes
	BVDV (virus-modèle HCV)	5 minutes

CONDITIONNEMENTS

- 1 200 doses de 50 ml.....Réf. 165.125
200 doses de 25 ml.....Réf. 165.097
- 2 12 flacons de 1 litre doseur.....Réf. 165.095
- 3 4 bidons de 5 litres + pompe 25 ml.....Réf. 165.036

Laboratoires
ANIOS

Pavé du Moulin
59260 Lille-Hellemmes - France
Tél. +33 3 20 67 67 67 - Fax : +33 3 20 67 67 68



Annexe 3 : Le milieu gélosé R2A

La gélose R2A est utilisée pour les numérations hétérotrophiques des bactéries dans les eaux potables traitées par la technique de filtration sur membrane ou par ensemencement sur gélose.

Ce milieu, développé par Reasoner et Gelreich, est supérieur aux milieux classiques pour le dénombrement des bactéries stressées ou résistantes au chlore. L'utilisation d'un milieu pauvre en nutriments favorise la pousse de ces bactéries au détriment des espèces à croissance rapide, permettant ainsi leur numération.

Formule

Extrait de levure : 0.5 g

Peptone protéose : 0.5 g

Hydrolysate de caséine : 0.5 g

Glucose : 0.5 g

Amidon : 0.5 g

Phosphate dipotassique : 0.3 g

Sulfate de magnésium anhydre : 0.024 g

Pyruvate de sodium : 0.3 g

Gélose : 15.0 g

Eau purifiée : qsp 1000 ml

Ajustez le pH à 7.2 ± 0.2 après stérilisation. Procédez à la stérilisation par chauffage à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min.

Conservation

Flacons et boîtes : 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Milieu déshydraté : 2 et 30°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Préparation

1. Mettre en suspension 18,1 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
2. Répartir en tubes ou flacons.

3. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

Utilisation

Se conformer aux protocoles en vigueur pour le recueil de l'eau et la technique de filtration ou d'ensemencement. Incuber 5 à 7 jours à 35-37°C, ou 7 jours à 20 et 28°C.

Annexe 4 : Fiche technique du détergent HEXANIOS G+R

A. Principe

Recherche de traces d'HEXANIOS G+R dans les eaux de rinçage, en milieu biphasique et en présence de bleu de bromophénol utilisé comme indicateur.

B. Réactifs

Indicateur coloré : Solution de Bleu de bromophénol à 0,1 %.

Dissoudre 0,1 g de Bleu de bromophénol (Réf : 11,439-1, SIGMA ALDRICH ou équivalent) et ajuster à 100 ml d'eau déminéralisée dans une fiole jaugée de 100 ml.

Solution tampon pH 11.

Dans une fiole jaugée de 1L, dissoudre 7 g de carbonate de sodium (Réf : 27771 290 VWR ou équivalent) et 100 g de sulfate de di-sodium (Réf : 23859-7, SIGMA

ALDRICH ou équivalent) dans de l'eau déminéralisée. Après totale dissolution, ajuster à 1L avec de l'eau déminéralisée.

Chloroforme pour analyses (Réf : 22711 324 VWR ou équivalent).

Annexe 5 : Méthode de recherche de traces d'HEXANIOS G+R dans les eaux de rinçage au moyen de bandelette

A. Principe

Recherche de traces d'ammoniums quaternaires dans les eaux de rinçage, a moyen de bandelettes.

B. Réactifs

Bandelettes MERCK (réf. : MERCKOQUANT, Composés d'ammoniums quaternaires, Réf 1.17920.0001 – 10 à 500 ppm).

C. Mode opératoire

Prélever dans un récipient propre de l'eau de rinçage à analyser.

Tremper une bandelette dans l'eau de rinçage à tester pendant 2 secondes.

Après 1 minute, lire le résultat en comparant la coloration de la bandelette avec l'échelle de couleur figurant sur la boîte. Prendre pour référence un témoin trempé dans de l'eau de réseau (blanc).

D. Seuil de détection

Le seuil de détection est de 10 ppm (mg/L) d'ammonium quaternaire.

Annexe 6 : Les spectres d'absorption des eaux de rinçage



LABORATOIRE CONTROLE QUALITE

Blanc 2 essai

Le: 21/03/2017

[Comment]

Sample Name eau de rinçage
Comment
User hy
Division
Company LDM

[Measurement Information]

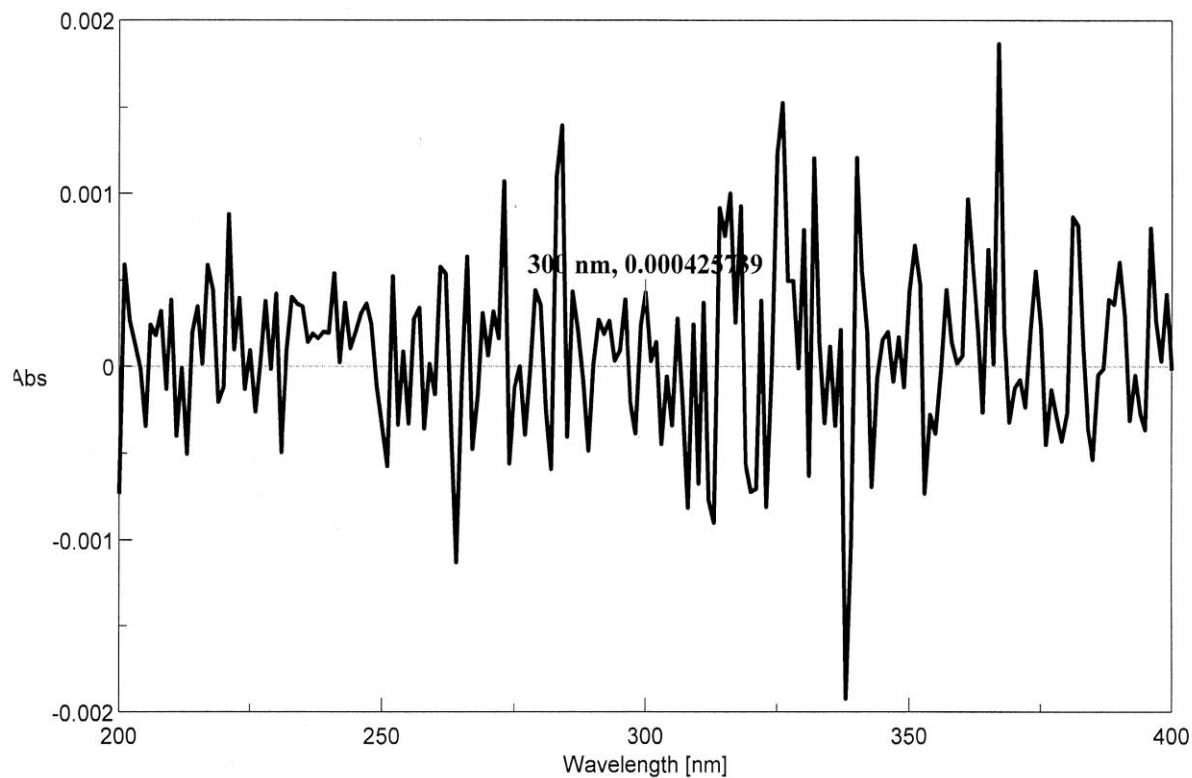
Instrument Name JASCO serie600
Model Name V-630
Serial No. A108561148

[Data Information]

Creation Date 21/03/2017 14:28

Data array type Linear data array
Horizontal Wavelength [nm]
Vertical Abs
Start 400 nm
End 200 nm
Data pitch 1 nm
Data points 201

Photometric Mode Abs
Measurement range 400 - 200 nm
Data pitch 1 nm
Band width(UV/Vis) 1.5 nm
Response VQuick
Scanning speed 400 nm/min
Source Change 340 nm
Light Source D2/WI
Filter Exchange Step
Correction Baseline





LABORATOIRE CONTROLE QUALITE

pipettes 1ml 2 essai

Le: 21/03/2017

[Comment]

Sample Name eau de rinçage

Comment

User hy

Division

Company LDM

[Measurement Information]

Instrument Name JASCO serie600

Model Name V-630

Serial No. A108561148

Photometric Mode Abs

Measurement range 400 - 200 nm

Data pitch 1 nm

Band width(UV/Vis) 1.5 nm

Response VQuick

Scanning speed 400 nm/min

Source Change 340 nm

Light Source D2/WI

Filter Exchange Step

Correction Baseline

[Data Information]

Creation Date 21/03/2017 14:30

Data array type Linear data array

Horizontal Wavelength [nm]

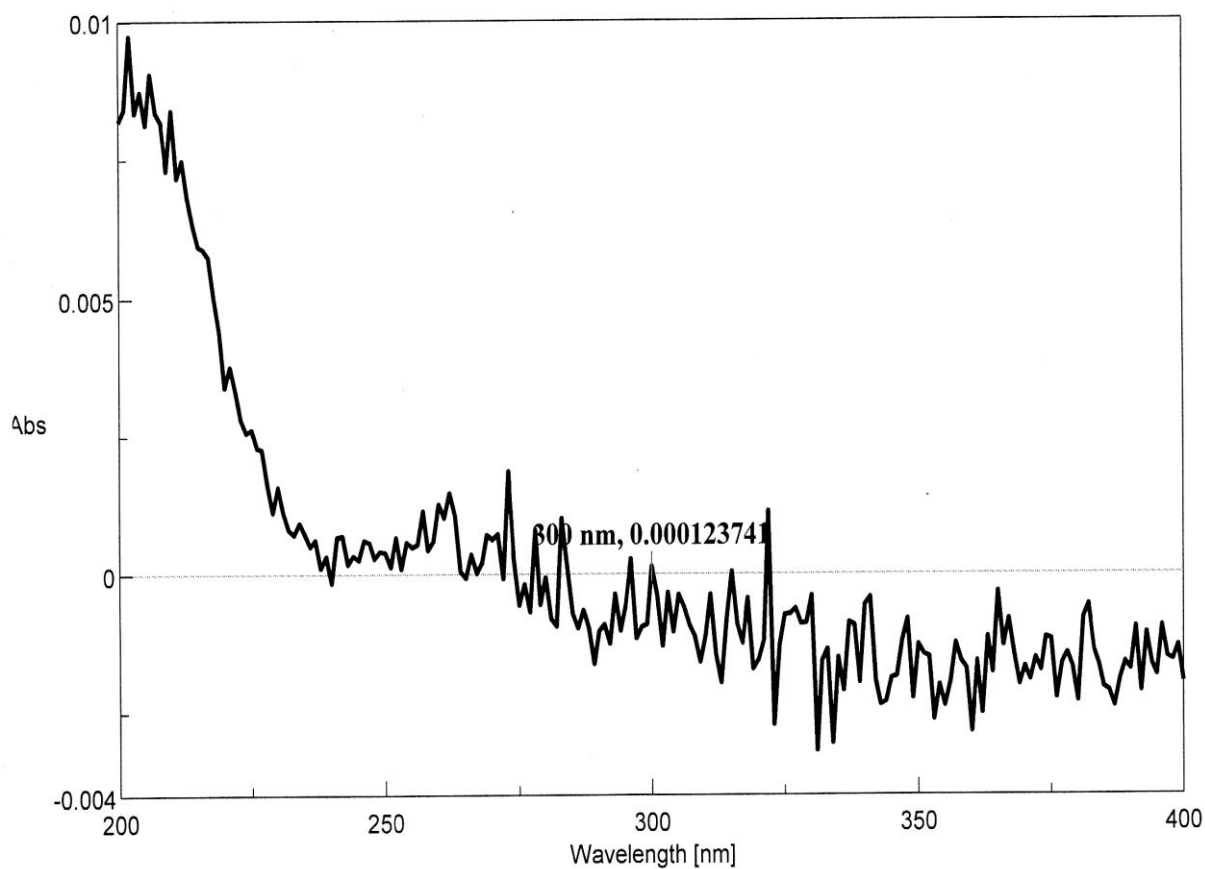
Vertical Abs

Start 400 nm

End 200 nm

Data pitch 1 nm

Data points 201





LABORATOIRE CONTROLE QUALITE

Bac de verrerie 2 essai

Le: 21/03/2017

[Comment]

Sample Name eau de rinçage

Comment

User hy

Division

Company LDM

[Measurement Information]

Instrument Name JASCO serie600

Model Name - V-630

Serial No. A108561148

Photometric Mode Abs

Measurement range 400 - 200 nm

Data pitch 1 nm

Band width(UV/Vis) 1.5 nm

Response VQuick

Scanning speed 400 nm/min

Source Change 340 nm

Light Source D2/WI

Filter Exchange Step

Correction Baseline

[Data Information]

Creation Date 21/03/2017 14:33

Data array type Linear data array

Horizontal Wavelength [nm]

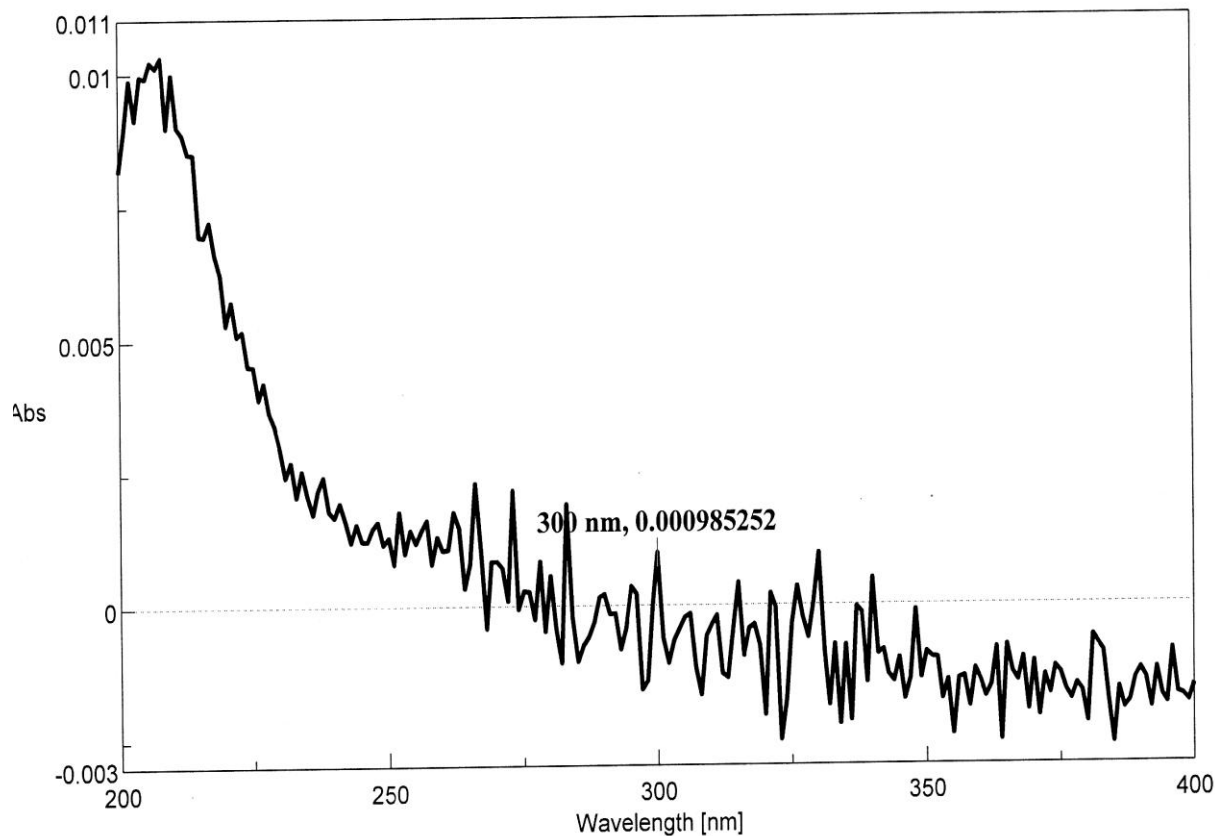
Vertical Abs

Start 400 nm

End 200 nm

Data pitch 1 nm

Data points 201





LABORATOIRE CONTROLE QUALITE

vials 2 essai

Le: 21/03/2017

[Comment]

Sample Name eau de rinçage

Comment

User hy

Division

Company LDM

[Measurement Information]

Instrument Name JASCO serie600

Model Name V-630

Serial No. A108561148

Photometric Mode Abs

Measurement range 400 - 200 nm

Data pitch 1 nm

Band width(UV/Vis) 1.5 nm

Response VQuick

Scanning speed 400 nm/min

Source Change 340 nm

Light Source D2/WI

Filter Exchange Step

Correction Baseline

[Data Information]

Creation Date 21/03/2017 14:36

Data array type Linear data array

Horizontal Wavelength [nm]

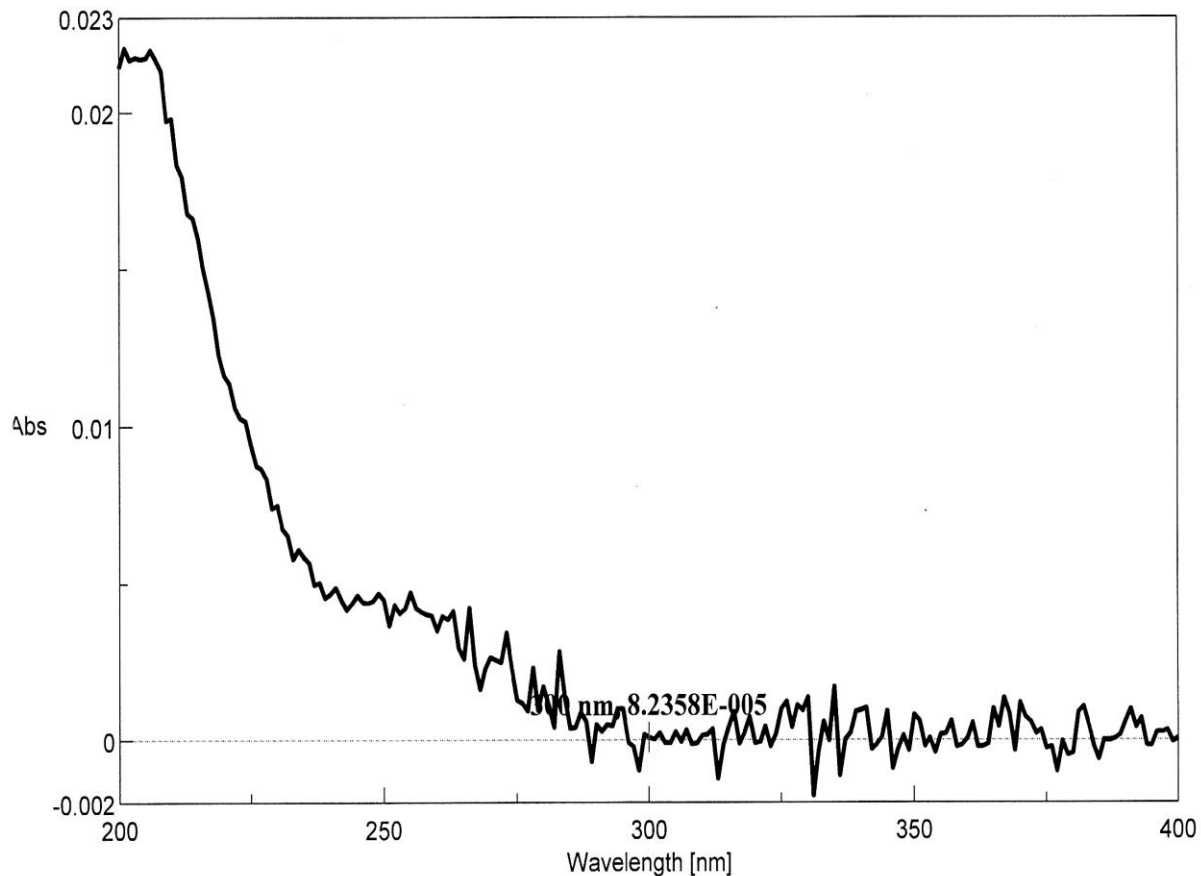
Vertical Abs

Start 400 nm

End 200 nm

Data pitch 1 nm

Data points 201





LABORATOIRE CONTROLE QUALITE

BLanc 3 essai

Le: 26/03/2017

[Comment]

Sample Name eau purifiée
 Comment
 User ko
 Division
 Company LDM

[Measurement Information]

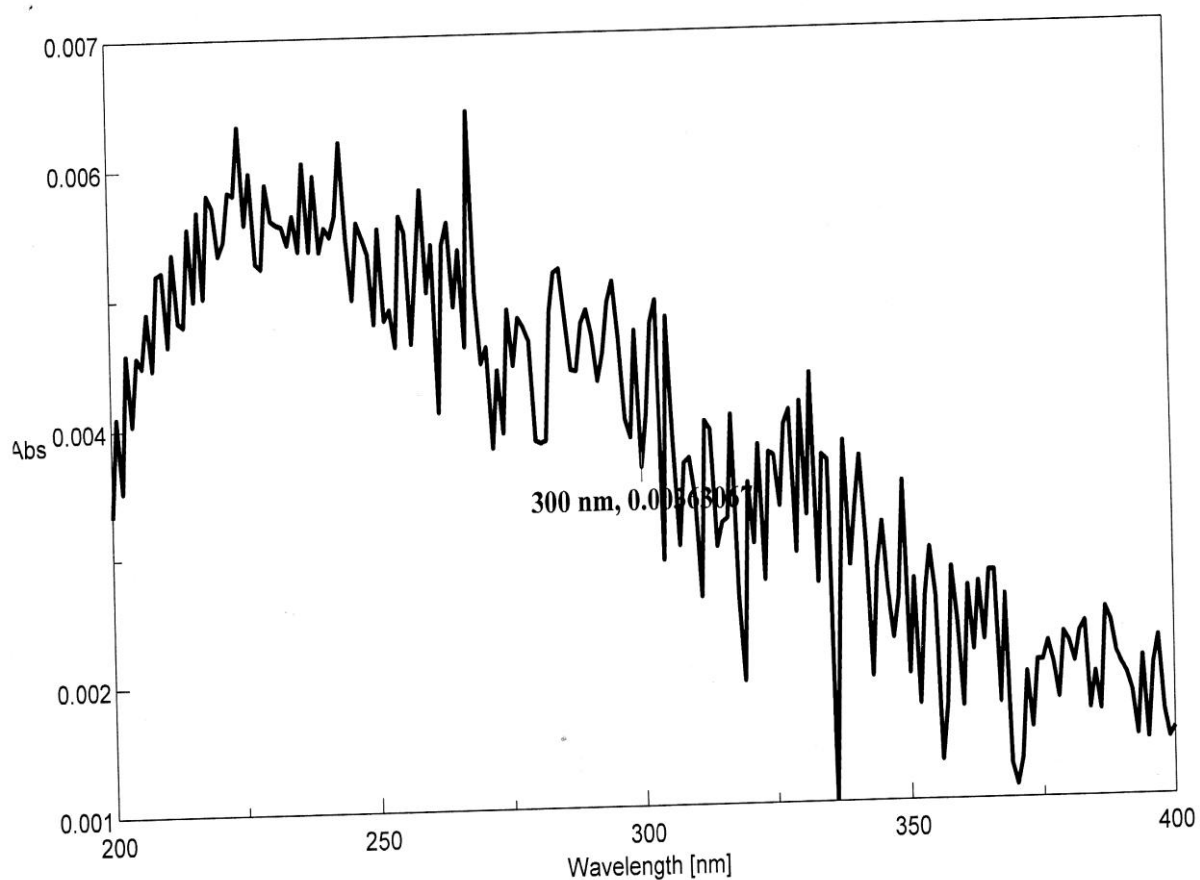
Instrument Name JASCO serie600
 Model Name V-630
 Serial No. A108561148

[Data Information]

Creation Date 26/03/2017 12:31

Data array type Linear data array
 Horizontal Wavelength [nm]
 Vertical Abs
 Start 400 nm
 End 200 nm
 Data pitch 1 nm
 Data points 201

Photometric Mode Abs
 Measurement range 400 - 200 nm
 Data pitch 1 nm
 Band width(UV/Vis) 1.5 nm
 Response VQuick
 Scanning speed 400 nm/min
 Source Change 340 nm
 Light Source D2/WI
 Filter Exchange Step
 Correction Baseline





LABORATOIRE CONTROLE QUALITE

Bac de verrerie 3 essai

Le: 26/03/2017

[Comment]

Sample Name eau purifiée
 Comment
 User ko
 Division
 Company LDM

[Measurement Information]

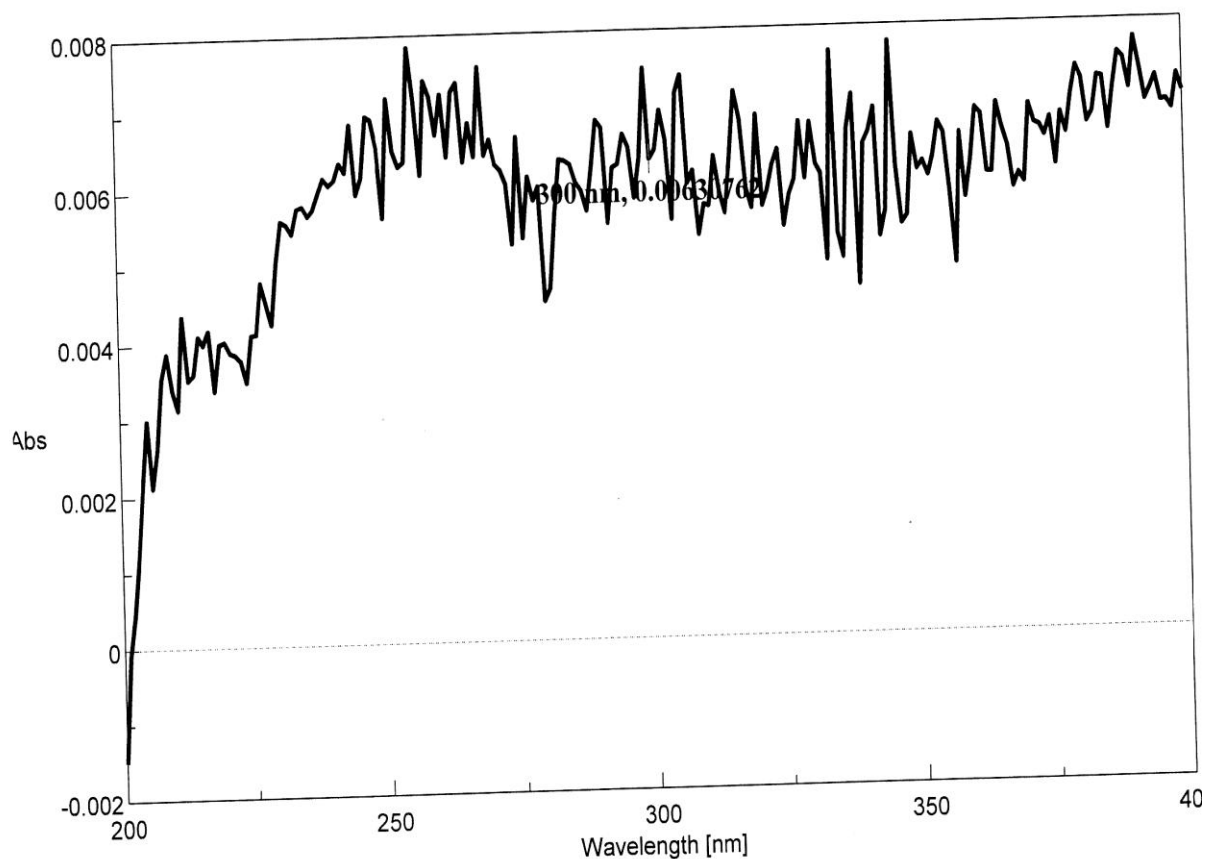
Instrument Name JASCO serie600
 Model Name V-630
 Serial No. A108561148

[Data Information]

Creation Date 26/03/2017 12:36

Data array type Linear data array
 Horizontal Wavelength [nm]
 Vertical Abs
 Start 400 nm
 End 200 nm
 Data pitch 1 nm
 Data points 201

Photometric Mode Abs
 Measurement range 400 - 200 nm
 Data pitch 1 nm
 Band width(UV/Vis) 1.5 nm
 Response VQuick
 Scanning speed 400 nm/min
 Source Change 340 nm
 Light Source D2/WI
 Filter Exchange Step
 Correction Baseline





LABORATOIRE CONTROLE QUALITE

pipettes 1ml 3 essai

Le: 26/03/2017

[Comment]

Sample Name eau purifiée
Comment
User ko
Division
Company LDM

[Measurement Information]

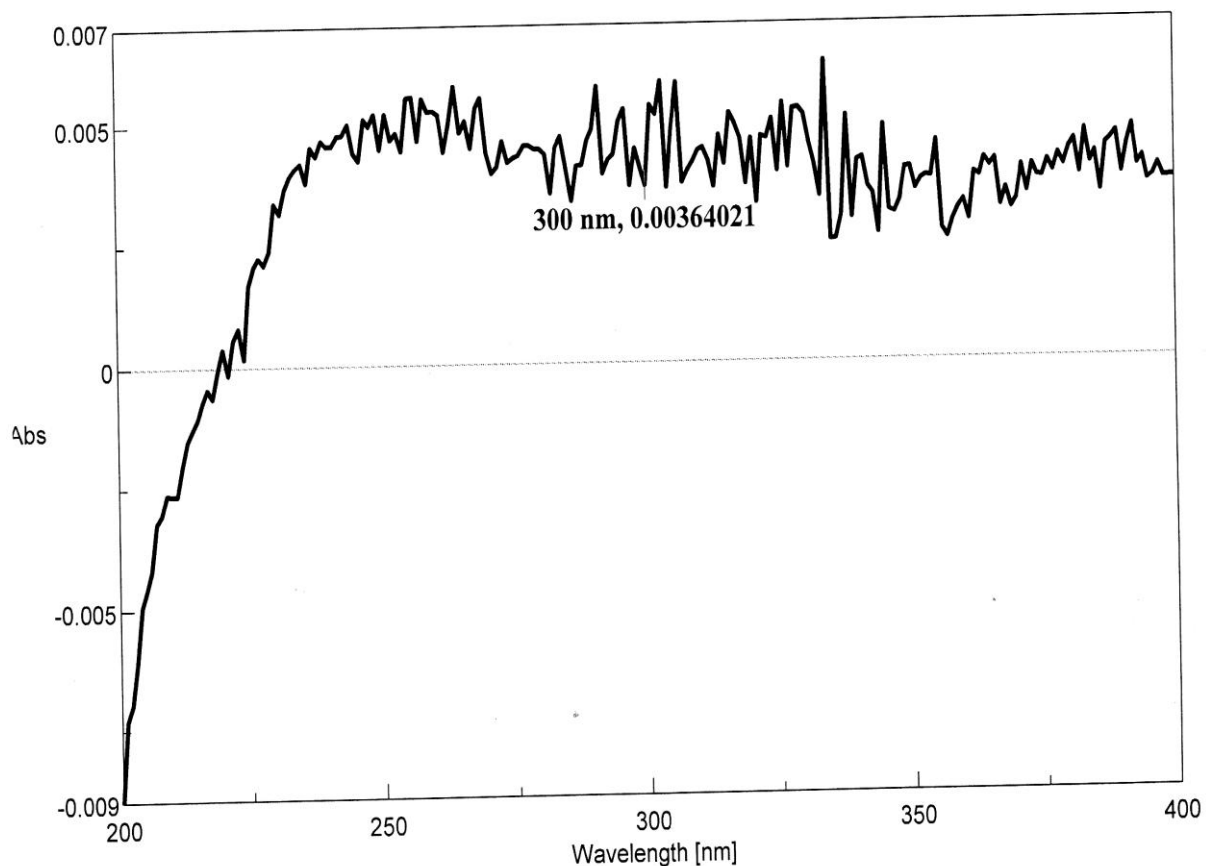
Instrument Name JASCO serie600
Model Name V-630
Serial No. A108561148

[Data Information]

Creation Date 26/03/2017 12:33

Data array type Linear data array
Horizontal Wavelength [nm]
Vertical Abs
Start 400 nm
End 200 nm
Data pitch 1 nm
Data points 201

Photometric Mode Abs
Measurement range 400 - 200 nm
Data pitch 1 nm
Band width(UV/Vis) 1.5 nm
Response VQuick
Scanning speed 400 nm/min
Source Change 340 nm
Light Source D2/WI
Filter Exchange Step
Correction Baseline





LABORATOIRE CONTROLE QUALITE

viales3 essai

Le: 26/03/2017

[Comment]

Sample Name eau purifiée

Comment

User ko

Division

Company LDM

[Measurement Information]

Instrument Name JASCO serie600

Model Name V-630

Serial No. A108561148

Photometric Mode Abs

Measurement range 400 - 200 nm

Data pitch 1 nm

Band width(UV/Vis) 1.5 nm

Response VQuick

Scanning speed 400 nm/min

Source Change 340 nm

Light Source D2/WI

Filter Exchange Step

Correction Baseline

[Data Information]

Creation Date 26/03/2017 12:37

Data array type Linear data array

Horizontal Wavelength [nm]

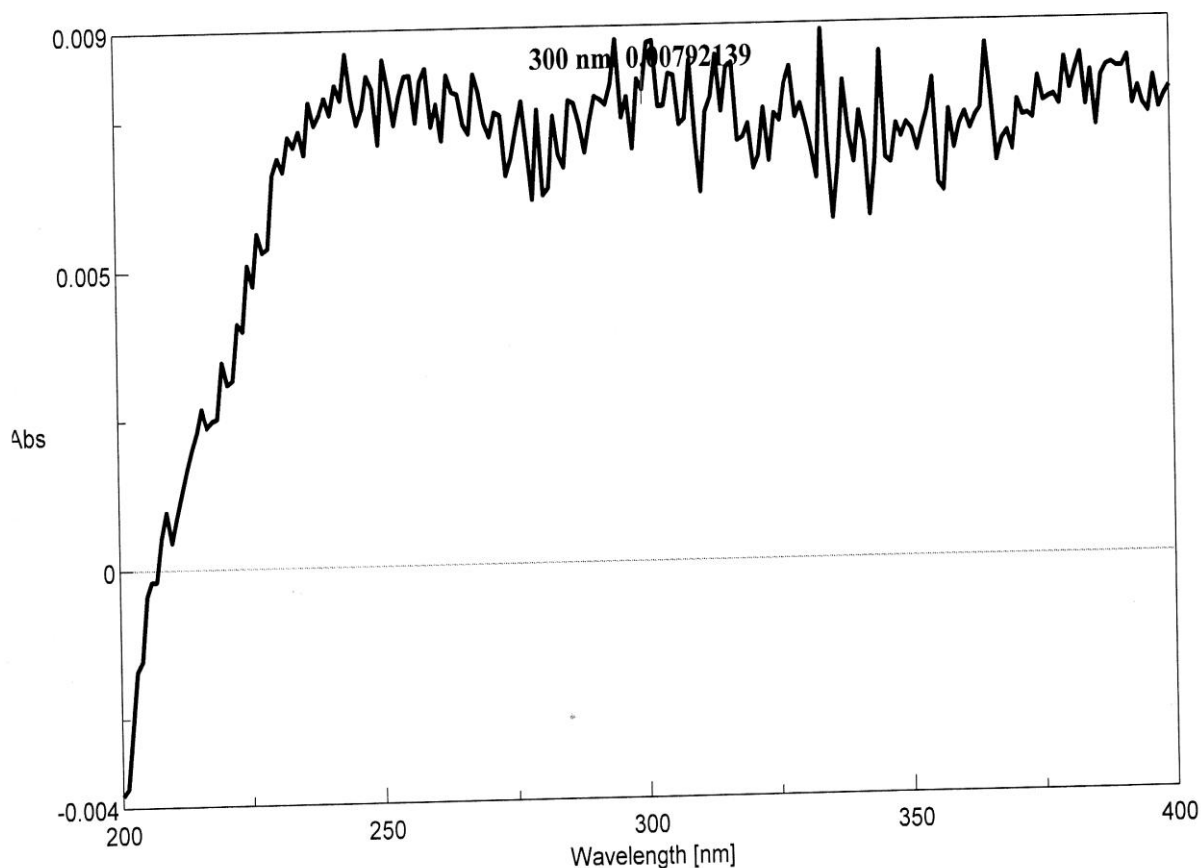
Vertical Abs

Start 400 nm

End 200 nm

Data pitch 1 nm

Data points 201



RESUME

Résumé

La validation des méthodes de nettoyage garantit que les procédés de méthodes d'analyses sont mis en œuvre dans des locaux et avec du matériel propre. Elle doit être considérée comme l'un des moyens mis à la disposition de l'analyste pour lutter contre les risques de la prolifération microbienne.

Notre étude s'intéresse à la verrerie utilisée quotidiennement dans laboratoire de contrôle qualité du groupe pharmaceutique LMD dans l'objectif d'établir une méthode de validation de nettoyage de cette verrerie. Pour atteindre cet objectif, après nettoyage de diverse verrerie, les eaux de rinçage étaient le point de prélèvement afin de réaliser des analyses physico-chimiques spécifiques et non spécifique ainsi que des analyses microbiologiques sur ces eaux.

Les résultats de ce travail montrent l'efficacité des méthodes de nettoyage utilisées. La recherche spécifique des traces de détergent et du principe actif montre que ces deux derniers sont présents avec une concentration faible. C'est aussi le cas pour la recherche non spécifique et celle des contaminants microbiens dans les eaux de rinçage et ce à partir des différents point de prélèvement. Ces résultats sont conformes aux critères d'acceptation et donc la méthode de nettoyage de la verrerie par la méthode décrite dans ce protocole est validée.

Mots- clés : Qualité, Contamination, Validation, Nettoyage, Procédure de nettoyage, validation de méthode de nettoyage.

Abstract

The validation of the cleaning methods ensures that analysis methods are implemented in locals and with clean equipment. It should be considered as one of the means available to the analyst to combat against microbial proliferation risks.

Our study focuses on the glassware used daily in the quality control laboratory LMD, pharmaceutical group in order to establish a validation of the glassware cleaning method. To achieve this goal, after cleaning various glassware, the rinsing waters were the point of sampling to perform specific and non-specific physicochemical analyzes as well as microbiological analyzes on these waters.

The results of this work show the effectiveness of the used cleaning methods. Specific research on traces of detergent and of the active principle shows that the two latter are present with a low concentration. This is also the case for non-specific research and of microbial contaminants in rinsing waters from different sampling points. These results are in accordance with the acceptance criteria. As a consequence, glassware cleaning method using the method described in this protocol is validated.

Keywords: Validation, Cleaning, detergent, validation of cleaning glassware method, Specific research, Non-specific research.

المخلص

التحقق من صحة طرق التنظيف يضمن أن عمليات التحليل تتم في مكان نظيف توجد فيه معدات نظيفة وتكون حسب المعايير اللازمة.. و يجب أن يعتبر من الوسائل المتاحة لمحاربة خطر نمو الميكروبات.

دراستنا تركز على المعدات الزجاجية المستخدمة في مختبر مراقبة الجودة اليومية للأدوية مجموعة LDM الهدف من هذه الدراسة التحقق من صحة طريقة تنظيف هذه المعدات الزجاجية. ولتحقيق ذلك يجب بعد تنظيف هذه الأخيرة اخذ عينة من المياه من أجل تحقيق التحليل الكيميائي والفيزيائي والميكروبيولوجي .

تظهر نتائج هذه الدراسة فعالية أساليب التنظيف المستخدمة عن طريق البحث عن آثار محددة للمنظفات والعنصر النشط مما يدل على أن هذين الأخيرين موجودين بتركيز منخفضة. و كذلك بالنسبة للبحث عن الميكروبات في مياه الشطف انطلاقاً من اخذ عينات من نقاط مختلفة. هذه النتائج متسقة مع معايير القبول، وبالتالي التأكد من صحة طريقة تنظيف المعدات الزجاجية بواسطة الطريقة الموصوفة في هذا البروتوكول.

الكلمات المفتاحية : التحقق من صحة ؛ التنظيف ؛ المنظفات ؛ التأكد من صحة طريقة تنظيف المعدات الزجاجية

GUELLOUR Madiha	Date de soutenance : /09/2017
HARIZI Rbiha Yasmine	
Thème : Validation de méthode de nettoyage de la verrerie	
<p align="center">Département : de Biologie Appliquée : قسم</p> <p align="center">Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master</p> <p align="center">Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie</p> <p align="center">Filière : Sciences Biologiques</p> <p align="center">Spécialité : Bioindustrie Analyse et Contrôle</p>	
Résumé	
<p>La validation des méthodes de nettoyage garantit que les procédés de méthodes d'analyses sont mis en œuvre dans des locaux et avec du matériel propre. Elle doit être considérée comme l'un des moyens mis à la disposition de l'analyste pour lutter contre les risques de la prolifération microbienne.</p> <p>Notre étude s'intéresse à la verrerie utilisée quotidiennement dans laboratoire de contrôle qualité du groupe pharmaceutique LMD dans l'objectif d'établir une méthode de validation de nettoyage de cette verrerie. Pour atteindre cet objectif, après nettoyage de diverse verrerie, les eaux de rinçage étaient le point de prélèvement afin de réaliser des analyses physico-chimiques spécifiques et non spécifique ainsi que des analyses microbiologiques sur ces eaux.</p> <p>Les résultats de ce travail montrent l'efficacité des méthodes de nettoyage utilisées. La recherche spécifique des traces de détergent et du principe actif montre que ces deux derniers sont présents avec une concentration faible. C'est aussi le cas pour la recherche non spécifique et celle des contaminants microbiens dans les eaux de rinçage et ce à partir des différents point de prélèvement. Ces résultats sont conformes aux critères d'acceptation et donc la méthode de nettoyage de la verrerie par la méthode décrite dans ce protocole est validée.</p>	
Mots- clés : Qualité, Contamination, Validation, Nettoyage, Procédure de nettoyage, validation de méthode de nettoyage.	
Laboratoire : contrôle de qualité groupe LDM	
Président :	
Rapporteur : Mme. BENCHIHEUB Meriem	M.C.B., U.M.C. Constantine
Examinatrice :	