

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



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant
Filière : Sciences biologiques, Spécialité : bioindustries analyse et contrôle

Par :

BEKOUCHE Mohamed Amine
ABDALLAH KHODJA Rania

Le : 15-09-2020

Thème

**Stratégie de validation des procédés de nettoyage des
équipements de production en industrie
pharmaceutique**

Jury d'évaluation :

Président de jury: Mr. KACEM CHAOUCHE N

Rapporteur : Mr. DINAR Karim

Examineur: YUCEF ALI

Maitre de stage: Mme. BELHADJ Sabrina

Pr. Univ. Constantine 1.

Dr. Univ. Constantine 1.

Dr. Univ. Constantine 1.

Chef de production.SAIDAL

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2019/2020

Remerciement

Merci Dieu

Tu nous as nous a donné la force et merci de nous avoir permis d'arriver à ce stade-là durant la réalisation de ce modeste travail

Nous remercions particulièrement

Mr KACEM CHAOUACH Chef de département biologie appliquée pour nous avoir assuré une formation de qualité,

Nous tenons à remercier également notre encadreur Dr. Dinar Karim pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

On exprime également notre gratitude envers les membres de jury de ce mémoire

Ainsi que l'ensemble de l'équipe de SAJDAL, pour leur accueil bienveillant et leurs conseils avisés, et cela malgré leur emploi du temps chargé

On souhaitait 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.

Amine & Rania

Dédicaces

Je dédie ce travail

Mes grands-parents et mes parents

Ce travail est le fruit de votre éducation et de vos sacrifices sans limites.

A mes sœurs Ayssel et Ines

Pour votre sens de l'humour, gentillesse et surtout votre grande serviabilité. Pussions-nous rester amis, complices et unis dans la tendresse pour toujours.

A mes tantes

Vous êtes pour moi une source de courage, de confiance et de patience vous êtes mon support dans la vie.

Aux personnes qui ont été toujours présents pour moi, qui m'ont arrosé d'espoir merci.

A toute ma famille mes cousin et mes cousines

A mes chères amies Lyna, Alla et Asma

À mon très cher binôme qui a partagé ce travail avec moi

*A tous mes camarades de promotion que j'ai partagée avec eux
les meilleurs moments du parcours
Et a tous mes enseignants*

Rania

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à l'être le plus chère pour moi dans cette vie, ma mère et, à l'être que je respecte le plus dans ce monde, mon père, pour leur sacrifice et leur encouragement pour finir ce travail ; que dieu leur prêtent longue vie.

À Mon frère Abdou et mes sœurs, Rofaïda, Nour et Merieme

À tous les membres de ma famille

À mémoire de mes grands-parents À tous mes amis, tous mes camarades, tous mes enseignants, et à toute personne ayant contribué à ce travail

À toute l'équipe BAC

À mon très cher binôme pour sa patience et sa compréhension

AMINE

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES.....	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES ABREVIATIONS	IX
INTRODUCTION.....	1
Chapitre 01 : la contamination et ses moyens de luttés	3
I. La contamination.....	3
I.1. définition de la contamination	3
I.2 Type de contamination.....	3
I.2.1 La contamination particulière	3
I.2.2 Contamination microbiologique (biocontamination)	4
I.2.3 Contamination chimique	4
I.2.4 La contamination croisée	5
I.3 Lutte contre la contamination.....	5
I.3.1 Maitrise préventive de la contamination	5
I.3.1.1 Etablir des barrières anti-contamination autour de l’activité protégée.....	5
I.3.1.2 Limiter la génération de contaminants par l’activité elle-même.....	6
I.3.1.3 Organiser les flux de matières et personnels	6
I.3.2 Traitement curatif : le nettoyage.....	7
I.3.2.1 Définition.....	7
I.3.2.2 Types de nettoyage.....	7
I.3.2.3 Mécanisme de nettoyage	8
I.3.2.4. Cinétique d’élimination des souillures	10
I.3.2.5 Facteurs intervenant au cours de nettoyage	11
I.3.2.6 Les agents de nettoyage(le détergent)	13
I.3.2.7 Solvant de nettoyage	15
I.3.2.8 Critères de choix de détergent	16
I.3.2.9. Les dix principes du nettoyage	17
Chapitre 02 : la validation du nettoyage	19
II.1. Définition de la validation et la validation de nettoyage	19
II.2. But de la validation	20
II.2.1. Validation et qualité.....	20

II.2.2. Validation et le cout	20
II.3. Différents types de la validation	21
II.3.1. Validation prospective	21
II.3.2. Validation simultanée	22
II.3.3. validation rétrospective	22
II.4. Acteurs de la validation de nettoyage	22
II.4.1. Structure chargée de la production	22
II.4.2. Laboratoire de contrôle qualité.....	23
II.4.3. Structure chargée de l'assurance qualité	23
II.4.4. Service hygiène, sécurité et environnement (HSE)	23
II.4.5. Direction Technique	23
II.4.6. Service de qualification/validation	24
II.5. Choix de l'approche de validation	24
II.6. Pré-requises à la validation de nettoyage	25
II.6.1. Rédaction de la procédure de nettoyage.....	25
II.6.2. Qualification des locaux et équipements a nettoyé.....	27
II.6.3. Qualification du personnel charge du nettoyage.....	28
II.6.4. Qualification du matériel et des agents de nettoyage.....	29
II.7. Stratégie de la validation de nettoyage	29
II.7.1. Validation du nettoyage selon l'ancienne approche (approche traditionnelle).....	30
II.7.1.1 Sélection du contaminant à chercher	30
II.7.1.2. Validation du nettoyage selon l'approche pire-cas.....	32
II.7.1.3. Critères d'acceptation	37
II.7.1.4. Méthodes de prélèvement dans l'industrie pharmaceutique.....	44
II.7.1.5. Méthodes d'analyse	48
II.7.1.6 Validation des méthodes analytiques	54
II .8. Validation du nettoyage des équipements de fabrication pharmaceutique : Nouvelle approche basée sur le risque santé et la détermination de l'Exposition Journalière Admissible – PDE (Permitted Daily Exposure)	57
I.8.1. Détermination de l'Exposition Journalière Admissible (PDE).....	58
Chapitre 3 : Protocole expérimentale.....	59
III.1. Objectif.....	59
III.2. Conditions pré-requises à la validation de nettoyage	59
III.2.1. Méthode	59

III.2.2. Milieu et équipements.....	60
III.2.3. Main d'œuvre.....	60
III.2.4. matière.....	60
III.3. Description des matériels à nettoyer	61
III.4. Procédure de nettoyage	63
III.4.1. Pré-nettoyage	63
III.4.2. Application du détergent.....	63
III.4.3. Rinçage intermédiaire.....	64
III.4.4. Rinçage final	64
III.5. Le détergent	64
III.6. Approche pire cas (Worst Case).....	64
III.6.1. Liste des médicaments fabriqués en site de production de SAIDAL Constantine II.....	65
III.6.2. Critères de déterminations du produit pire cas.....	66
III.6.2.1. Échelle de toxicité (Échelle de Hodge&Sterner).....	66
III.6.2.2. Échelle de solubilité (la solubilité aqueuse).....	67
III.6.2.3. Échelle de nettoyabilité.....	67
III.7. Plan de prélèvements	68
III.8. Méthodes analytiques	69
III.8.1. analyse physico-chimique des eaux de rinçage.....	69
III.8.1.1. Méthodes non spécifique	69
III.8.2. Méthodes d'analyse microbiologique.....	71
III.8.2.1. Mode opératoire.....	72
III.8.2.2. Critères d'acceptation pour l'analyse microbiologique	72
chapitre 04 : Résultats et discussions	74
IV.1. Détermination du produit pire cas « worst-case »	74
IV.2. Les analyses physicochimiques	75
IV.2.1. Caractères organoleptiques	75
IV.2.2. Mesure de pH.....	77
IV.2.3. Mesure de conductivité.....	79
IV.2.4. les substances oxydables	80
IV.2.5. spectre UV visible	81
IV.3. Résultats des analyses microbiologiques	83
IV.3.1. Recherche des microorganismes dans les eaux de rinçages.	83
Conclusion générale et perspectives	85

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

LISTE DES FIGURES

Figure 1:Tête rotative utilisée pour le NEP	8
Figure 2: Interactions au cours du nettoyage.....	8
Figure 3: Schématisation de l'action du détergent sur une souillure.	10
Figure 4: variation de quantité des salissures en fonction de temps	11
Figure 5:Cercle de Sinner.....	13
Figure 6:Choix du détergent en fonction de type de la souillure.	16
Figure 7 : Organigramme de démarche adoptée pour la rédaction d'une procédure de nettoyage	27
Figure 8: Organigramme des conditions pré-requises avant la validation de nettoyage.	61
Figure 9 : Schéma de la ligne sirops	62
Figure 10: Structure chimique du détergent ANIOSTERIL DAC II.	64
Figure 11: Les différents points de prélèvements.	69
Figure 12:pH mètre.....	70
Figure 13: Rampe de filtration sur membrane.	72
Figure 14: Structure chimique de chlorhydrate cyproheptadine.....	75
Figure 15: aspect de quelque échantillon des eaux de rinçage.	77
Figure 16: Résultats de la recherche des substances oxydables.	81
Figure 17: Dénombrement des microorganismes viables dans les eaux de rinçage par méthode de filtration sur membrane.	83

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: classification particulière des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée selon les BPF. . .	4
Tableau 2: Termes descriptifs de la solubilité selon la pharmacopée européenne	34
Tableau 3 : Grille de cotation de la nettoyabilité des principes actifs	34
Tableau 4 : Echelle de toxicité établie par Hodge et Sterner.....	35
Tableau 5 : une matrice reliant les équipements aux produits fabriqués.....	37
Tableau 6: Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles (Pharmacopée européenne 6ème éd).....	44
Tableau 7 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de prélèvement	48
Tableau 8: la différence entre les méthodes spécifiques et non-spécifiques	51
Tableau 9: les avantages et les inconvénients des méthodes analytiques.....	52
Tableau 10: Les fonctions et le type de matériau de chaque équipement de nettoyage.	62
Tableau 11: médicaments fabriqués dans le site Constantine II SAIDAL.....	65
Tableau 12: Grille de cotation de la toxicité des substances selon l'échelle de Hodge&Sterner.	66
Tableau 13: Grille de cotation de la solubilité aqueuse des substances	67
Tableau 14: Grille de cotation de la nettoyabilité des substances.....	68
Tableau 15: Plan de prélèvements au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne sirop.	68
Tableau 16: Scores et caractéristiques des produits fabriqués.....	74
Tableau 17: résultat du critère organoleptique des eaux de rinçages.	76
Tableau 18: résultat du pH des eaux de rinçages.	78
Tableau 19 : les résultats de la conductivité des eaux de rinçages.....	79
Tableau 20: Résultats de la recherche des substances oxydantes dans les eaux de rinçages.....	80
Tableau 21: Résultats du balayage de spectre UV visible.	82
Tableau 22: résultats du dénombrement des microorganismes viables dans les eaux de rinçage par méthode de filtration sur membrane	84

LISTE DES ABREVIATIONS

C°:Degré Celsius

µg:microgramme

µl:microlitre

ADI: acceptable dailyintake

ADN: Acide désoxyribonucléique

AFNOR: Association française de normalisation

ARL: Acceptable Residual Level

BPF: bonne pratique de fabrication

CCM: chromatographie sur couche mince

CIP: cleaning in place

cm²:Centimètre carré

COT: carbone organique total

CPG: chromatographie en phase gazeuse

CV: coefficient de variation

DGAT: dénombrement des germes aérobie totaux

DL 50: Dose Létale 50

DMLT: nombre totale de moisissures et de levures

EMA:European Medecines Agency

EPI: équipement de protection personnel

EQ: équipement

FDA :Food and Drug Administration

cGMP:current Good Manufacturing Practices

HPLC: High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie Liquide à Haute

HSE: service hygiène sécurité et environnement

iSO: International Standard of Organisation

Kg:Kilogramme

LOQ:Limite Of Quantification.

m²:mètre carré

MACO: maximal allowable carry over

MAR: maximum allowable residual

mg: milligramme

ml : millilitre

NEP: nettoyage en place

NOEL: No Observed Effect Level

PDE: Permitted Daily Exposure

ppm: partie par million

QC: qualification de conceptions

QI: qualification d'installation

QO: qualification opérationnelle

QP: qualification de performance

T°: Température en degré Celsius

UFC: unité formant colonie

UV: UltraViolet

ZAC: zone d'atmosphères contrôlées

Introduction

Introduction

Aujourd'hui, le médicament est l'un des produits les plus contrôlés et les plus sécurisés dans un secteur industriel où la réglementation est toujours plus exigeante; le marché pharmaceutique constitue un enjeu économique majeur. La fabrication des médicaments de la qualité requise, conforme aux spécifications de leurs dossiers d'autorisation de mise sur le marché doit être la priorité de tout site industriel pharmaceutique.

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

Le nettoyage des équipements, fait donc partie intégrante du procédé de fabrication et comme toute opération pharmaceutique, il doit faire objet de validation et ce conformément aux exigences réglementaires ainsi qu'aux directives des bonnes pratiques de fabrication appliquées au domaine pharmaceutique, la validation du nettoyage contribue à la sécurité, à l'efficacité et à l'acceptabilité des médicaments. Chaque entreprise pharmaceutique se doit donc de concevoir et de mettre en œuvre une politique visant à garantir que les médicaments fabriqués aient la qualité requise.

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

Notre travail a pour objectif de proposer une stratégie globale de validation de nettoyage et de valider le nettoyage d'une ligne de production.

Le manuscrit est structuré en trois parties :

La première partie il s'agit d'une revue de la littérature au sujet de la validation de nettoyage. Elle est subdivisée en deux chapitres ; Le premier chapitre décrit la contamination et les moyens de lutte et le deuxième chapitre mise en évidence le nettoyage et les méthodes de validation du nettoyage

Introduction

La seconde partie correspond à le protocole expérimentale suivi lors de ce travail, elle traite l'une des méthodes de validation de nettoyage pour une ligne de production d'un sirop dans une entreprise pharmaceutique multi produits SAIDAL.

Le travail est finalisé par la troisième partie, qui est réservé aux résultats et discussion et clôturé par une conclusion générale.

Chapitre I

La contamination et ses moyens de luttes

Chapitre 01 : la contamination et ses moyens de lutt

I. La contamination

I.1. définition de la contamination

Selon le guide des bonnes pratiques de fabrication (BPF), la contamination est définie comme « l'introduction non intentionnelle d'impuretés de nature chimique ou microbiologique, ou de matière étrangère, à l'intérieur ou à la surface d'une matière première, d'un intermédiaire, ou d'une substance active, pendant la production, l'échantillonnage, le conditionnement ou le reconditionnement, le stockage ou le transport »[01] .

La contamination d'un produit fabriqué dans l'industrie pharmaceutique est due à l'environnement, au matériel de fabrication, au personnel et (ou) à la matière première. Elle est considérée comme un souci moyen dans l'industrie pharmaceutique.

I.2 Type de contamination

Il y a quatre types de contamination dans lesquels l'industrie pharmaceutique est confrontée.

I.2.1 La contamination particulaire

C'est toutes substances étrangères du produit (particule métallique, poussières). Les particules sont caractérisées par leur diamètre exprimé en micromètres (μm). La contamination particulaire est mesurée en nombre de particules par unité de volume, cette mesure est réalisée à l'aide d'un compteur de particules[02]. Cette mesure conduit à la classification des zones d'atmosphères contrôlées (ZAC) dans les bonnes pratiques de fabrication, comme illustré dans le tableau 1.

Tableau 1: classification particulière des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée selon les BPF.

CLASSE	Au repos		À l'activité	
	Nombre maximal autorisé de particules par m ³ de taille égale ou supérieure aux tailles précisées.			
	0.5 µm	5 µm	0.5 µm	5 µm
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352000	2900
C	352000	2900	3520000	29000
D	3520000	29000	Non défini	Non défini

- **Classe A :** Les points où sont réalisées des opérations à haut risque, tels que le point de remplissage des ampoules et flacons ouverts et les points de raccordements aseptiques. Les postes de travail sous flux d'air laminaire doivent normalement garantir les conditions requises pour ce type d'opérations. Un flux d'air unidirectionnel et des vitesses inférieures peuvent être utilisés dans les isolateurs clos et dans les systèmes clos type « boîte à gants ».
- **Classe B :** Pour les opérations de préparation et de remplissage aseptiques, cette classe constitue l'environnement immédiat d'une zone de travail de classe A.
- **Classes C et D :** Zones à atmosphère contrôlée destinées aux étapes moins critiques de la fabrication des médicaments stériles[02].

I.2.2 Contamination microbiologique (biocontamination)

Proviennent de microorganismes (virus, bactéries, levures ou moisissures) dans des conditions qui leur sont favorables (température, humidité, pH, apport nutritif ...) se développent et se multiplient pour coloniser les surfaces des équipements. Ces microorganismes peuvent être détectés et quantifiés par des techniques de microbiologie.

I.2.3 Contamination chimique

C'est une contamination par les principes actifs, résidus des excipients, lubrifiants, produits de maintenance, produits intermédiaires ou produits finis, résidus des agents de nettoyage, produits de dégradation des médicaments ou agents de nettoyage, ...

Ces contaminants proviennent donc des équipements eux-mêmes, des équipements annexes, du personnel, ...

I.2.4 La contamination croisée

C'est le transfert des contaminants par un produit vers un autre au moyen d'un ou plusieurs facteurs tels que les mains des opérateurs par exemple.

Dans la contamination croisée, deux cas se figurent :

- **Contamination « successive »** : lorsque les deux produits A et B sont fabriqués dans les mêmes équipements et dans les mêmes locaux.
- **Contamination « simultanée »** : lorsque les deux produits A et B sont fabriqués en même temps, mais dans des équipements et locaux différents [03].

Le guide des bonnes pratiques de fabrication définit la contamination croisée comme « toute contamination accidentelle ayant pour origine la libération incontrôlée de gaz, de poussières d'aérosols ou de vapeurs, à partir des matières premières et produits en cours de fabrication, de résidus provenant du matériel et de vêtements des opérateurs »[01].

L'importance du risque de la contamination croisée varie selon le type de contaminant et de produit contaminé.

I.3 Lutte contre la contamination

I.3.1 Maitrise préventive de la contamination

La prévention est sans doute le meilleur moyen de lutter efficacement contre toute source de contamination liée à l'environnement, et ce quel que soit la nature des contaminants (bactériologique, chimique ou particulaire).

Le traitement préventif permettra, entre autre, de maintenir dans un état « propre » un matériel nettoyé et de le stocker avant réutilisation sans que celui-ci puisse être souillé par l'activité ambiante du site de production.

On peut prévenir la contamination on faisant ce qui suit :

I.3.1.1 Etablir des barrières anti-contamination autour de l'activité protégée

Les « barrières anti-contamination » sont des barrières physiques. Ce sont les locaux eux-mêmes avec des exigences de propreté croissante, des procédures d'accès en direction des zones sensibles, avec des sas pour le matériel et le personnel, des cloisons limitant les transferts des contaminants dans une même zone ou encore les postes protégés[04].

Quelques concepts de base peuvent être appliqués:

- Limiter la surface exposée aux contaminations : les parties de l'équipement qui ne servent pas directement à la fabrication sont implantées hors de la zone sensible et situées en zone dite technique.
- Favoriser l'élimination de la contamination, en continu - traitement des fluides air/eau – ou par le nettoyage.
- Limiter l'entrée de contaminants par la création de « sas personnel ».
- Choisir un revêtement approprié.
- La création de zone à atmosphère contrôlée (ZAC).
- Des gradients de pression décroissants des zones sensibles vers les moins sensibles permettront de lutter efficacement contre la contamination aéroportée[01].

I.3.1.2 Limiter la génération de contaminants par l'activité elle-même

Pour limiter la génération de contaminants liés à l'activité, il est possible d'agir sur 5 facteurs:

- Matières premières
- Equipements
- Méthodes
- Personnel
- Locaux

I.3.1.3 Organiser les flux de matières et personnels

Il est nécessaire de maîtriser les flux de matières et le flux des personnels d'exploitation. Le flux des personnels et matériels de maintenance est un vecteurs importants de contamination, qui devra être organisé. Les matières premières et les produits finis ne devront jamais se croiser afin d'éviter toute contamination.

Les opérateurs doivent être sensibilisé afin d'appliquer correctement les consignes et de comprendre les causes et les démarches de l'assurance qualité de l'entreprise pour maîtriser la qualité des produits finis.

Il convient de donner, par cette formation, des notions d'hygiène individuelle (lavage des mains, visite médicale, port de tenues adaptées au poste de travail, pas de bijoux), et collective (maintien en bon état de propreté des endroits de rassemblements et de passage)[04].

I.3.2 Traitement curatif : le nettoyage

I.3.2.1 Définition

Le nettoyage est un processus qui a pour but d'éliminer les salissures présentes sur une surface.

Norme *AFNOR 50-109* définit le nettoyage comme : « une opération consiste à éliminer d'une surface donnée toute souillure visible ou invisible s'y trouver ». Il constitue une étape clef et obligatoire de tout procédé de fabrication [05].

I.3.2.2 Types de nettoyage

En industrie pharmaceutique, trois types de nettoyage sont rencontrés ; Ces méthodes de nettoyage ont chacune leurs avantages et inconvénients. Il existe une forte tendance à réduire l'intervention du facteur humain (personnel) lors des nettoyages et ce, afin de minimiser le contact avec les produits et de pallier au manque de reproductibilité des nettoyages manuels [05].

A. Nettoyage manuel

Ce type de nettoyage se fait principalement par l'opérateur de production à l'aide des outils adaptés suivant un protocole établie et validé, donc l'opérateur doit être bien formé et habilité à réaliser le nettoyage. L'élimination des résidus se fait par action mécanique couplée ou non à une action chimique. Le principal avantage de ce type est le ciblage des zones critiques du matériel difficilement atteignables avec d'autres types de nettoyage[06][07].

B. Nettoyage semi-automatique

C'est une série d'opérations manuelle et automatique (préparation de solutions détergentes, démontage partiel pour la mise en place de système de lavage, pré-rinçage manuel...); Ce nettoyage permet de limiter l'intervention de l'opérateur en premier lieu [03].

C. Nettoyage automatique

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

Dans ce type, l'opérateur n'intervient pas dans le nettoyage, il est seulement présent pour s'assurer du bon déroulement du nettoyage, et pour lancer le programme du nettoyage. On

appelle communément ce mode de nettoyage : le Nettoyage En Place (NEP), ou encore Cleaning In Place (CIP) car il ne nécessite pas le démontage préalable des équipements.

Le développement et la conception d'un système de NEP sont particulièrement adaptés aux formes liquides ou semi-liquides.

Le nettoyage en place est réalisé à l'aide d'une tête rotative fixée sur l'équipement[06].



Figure 1: Tête rotative utilisée pour le NEP[06].

I.3.2.3 Mécanisme de nettoyage

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

On constate qu'au cours d'un nettoyage, trois interactions surviennent :

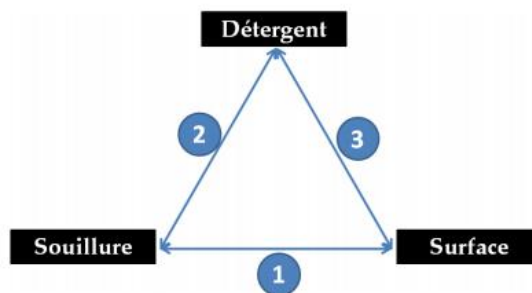


Figure 2: Interactions au cours du nettoyage[06].

- Surface -Souillure.
- Souillure - Détergent.
- Détergent - Surface.

Il existe trois phases dans tout type de nettoyage :

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

D'une manière générale, on peut noter que :

- Plus la souillure est petite plus l'adhésion à la surface sera forte.
- Plus l'étape de nettoyage intervient dans un délai important après la production plus la souillure est difficile à éliminer.
- La rugosité du matériel a un impact important sur la difficulté à réaliser le nettoyage[03].

En général, trois étapes se déroulent au cours d'un nettoyage :

A. Mouillage

Le mouillage est la première étape de l'action d'un détergent. Cette propriété de solubilisation ou de dispersion des salissures provient de l'action des tensio-actifs présents dans la formule des détergents. Entre la souillure et la surface, il existe des interactions de type forces électrostatiques de faible intensité, liaisons hydrogènes, interactions de Van der Waals et interactions hydrophobes, ces forces assurent l'adhésion de la souillure à la surface de l'équipement.

Les tensio-actifs migrent aux niveaux des interfaces eau/souillure en contact de la salissure. Ainsi, les tensions inter faciales souillure – surface sont réduites ce qui entraîne le décollement de la souillure [06].

B. Déplacement des souillures

Le tensioactif possède une forte affinité pour les souillures organiques grâce à ses propriétés physicochimiques. La souillure est fractionnée puis émulsionnée et/ou solubilisée. Cela permet la formation de micelles qui emprisonnent les souillures dans la solution de lavage (figure 3). Plus la concentration en tensioactif augmente, plus le phénomène d'émulsion des

souillures est important jusqu'à atteindre la concentration micellaire critique. A partir de la concentration micellaire critique, les micelles se forment spontanément[07].

C. Anti-redéposition des salissures

Une fois la souillure écartée du substrat, le rôle du produit détergent est d'éviter que cette salissure ne se redépose sur le support : c'est le mécanisme d'anti-redéposition. La surface et les micelles « souillure-détergent » portent des charges de même signe. Ceci a pour conséquence une répulsion entre la surface et les micelles, et entre les micelles elles-mêmes. Ainsi, les souillures décrochées des surfaces restent en suspension dans l'eau de lavage[07].

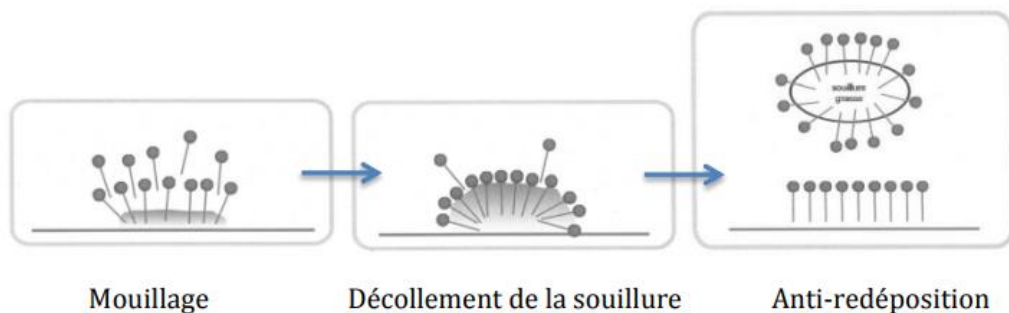


Figure 3: Schématisation de l'action du détergent sur une souillure[03].

I.3.2.4. Cinétique d'élimination des souillures

Bien souvent, au début de nettoyage, entre certaines limites, l'élimination de souillure se comporte comme une réaction de premier ordre, cette réaction désigne que la vitesse avec laquelle la souillure s'élimine, est directement proportionnelle à la quantité de souillure restante.

Cette relation s'écrit sous forme[04] :

$$\ln \left(\frac{Q}{Q_0} \right) = -K.t$$

Avec :

Q : Quantité de souillure par unité de surface.

Q₀ : Quantité initiale de souillure.

K : Constante de nettoyage.

t : Temps durant lequel le nettoyage est effectué.

La constante de nettoyage (K) est en fonction de la nature de la salissure, l'état du matériel, la température, l'action mécanique exercée et la concentration de détergent.

La relation précédente s'écrit aussi sous forme :

$$Q(t) = Q_0 \cdot e^{-K \cdot t}$$

La cinétique d'élimination de souillure obéit donc à une loi décroissante de type exponentielle.

La représentation graphique de cette équation est :

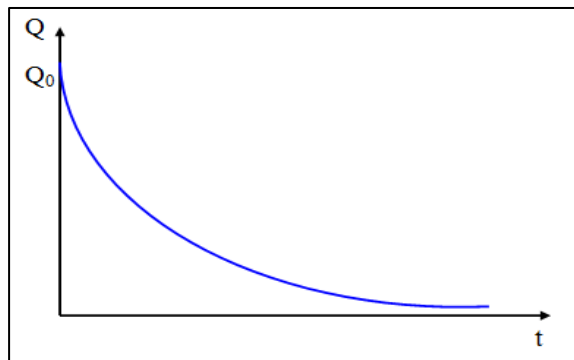


Figure 4: variation de quantité des salissures en fonction de temps[04].

D'après la courbe (Figure 04), on constate que le nettoyage parfait n'est atteint qu'après un temps infini de nettoyage et que par conséquent, toujours, on aura une quantité minime de souillure non éliminée, d'où la nécessité de fixer les limites d'acceptation avant de rédiger toute procédure de nettoyage.

I.3.2.5 Facteurs intervenant au cours de nettoyage

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

A. L'action chimique

Tout détergent possède une concentration optimale d'utilisation, déterminée lors d'essais par le fournisseur. L'efficacité du nettoyage n'est pas proportionnelle à la concentration du détergent pour toutes ses valeurs. En effet au-dessus d'une certaine concentration, des difficultés de rinçage peuvent être observées, des traces de détergent peuvent subsister et une toxicité tant pour l'opérateur que pour l'environnement peut apparaître. En règle générale, les détergents sont utilisés à une concentration de 2 à 5% [06].

B. Durée de nettoyage

Il paraît évident que l'efficacité du nettoyage dépend du temps alloué au contact entre la surface et la solution de nettoyage, mais on doit signaler que dans certain cas une durée de nettoyage trop importante peut favoriser la corrosion de la surface à nettoyer, c'est pourquoi, les industriels pharmaceutiques définit le temps de l'opération de nettoyage on se basant sur la cinétique d'une réaction de premier ordre et obéit à la loi suivante [03][06]:

$$Q(t) = Q_0 \cdot e^{-K \cdot t}$$

Avec :

Q : la quantité de souillure par unité de surface.

Q0 : la quantité de souillure initiale par unité de surface.

K : constante de nettoyage.

t : temps durant lequel le nettoyage est effectué.

C. Température d'utilisation

La température joue un rôle très important au cours de nettoyage, comme toute réaction chimique, une augmentation de la température a pour conséquence une augmentation de la vitesse de réaction (loi d'Arrhenius). Elle permet de :

- Abaisser la tension superficielle en améliorant l'adsorption des tensioactifs sur les interfaces.
- Accélérer la cinétique des réactions chimiques telles que la saponification et l'hydrolyse.

- Ramollir les huiles, graisses, cires et faciliter la pénétration du détergent.
- Faciliter l'action séquestrant de certains adjuvants notamment les phosphates.

La température d'opération de nettoyage se situe de façon typique, selon les procédés utilisés entre 40 et 80 °C [03].

D. Action mécanique

C'est un facteur très important, il intervient à tous les étapes de nettoyage pour assurer le contact entre la surface à nettoyer constamment et la solution détergente, et pour créer les forces nécessaires à l'arrachage des souillures.

L'action mécanique apportée par l'opérateur (force physique) est un paramètre non-négligeable et particulièrement dans le nettoyage manuel, d'où la nécessité de programmer des formations convenables aux opérateurs pour s'assurer de la réussite des opérations de nettoyage.

Tout supplément d'énergie mécanique apportée permet de réduire la température de fonctionnement ainsi que la durée du cycle de nettoyage [03].

Ces quatre paramètres sont réunis dans le cercle de SINNER

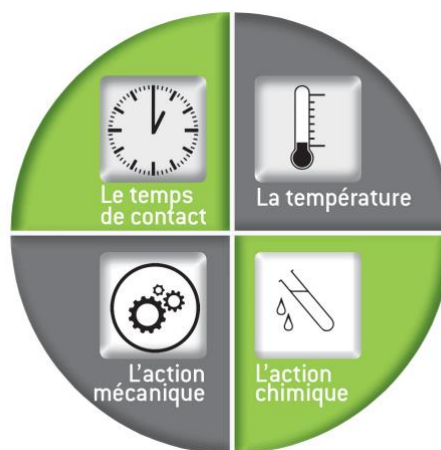


Figure 5:Cercle de Sinner[03].

I.3.2.6 Les agents de nettoyage(le détergent)

Les détergents sont des combinaisons de produits chimiques divers, dont leur rôle est d'aider à débarrasser une surface des souillures qui s'y sont déposées.

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 ».

A. Types de détergent

Les agents de nettoyage utilisés en industrie pharmaceutique sont:

- Les détergents à caractère alcalin.
- Les détergents à caractère acide.
- Les agents tensioactifs.

Les détergents alcalins

Le nettoyage par un détergent alcalin présente 80 % des nettoyages pratiqués, ce type de détergent est utilisé pour éliminer les résidus huileux, les graisses ou les protéines.

Les détergents alcalins doivent être solubles dans l'eau, possédant un bon pouvoir mouillant, émulsionnant, dispersant et une faible tension superficielle.

On distingue deux sous-types de détergent alcalin classés en fonction de la « source » d'alcalinité :

- Détergent « fort » : produit extrêmement caustique, réservé au nettoyage automatique, car il présente un risque pour les opérateurs effectuant le nettoyage.
- Détergent « faible » peut être utilisé lors du nettoyage manuel [04].

Les détergents acides

Le pH de ces détergents est inférieur à 4. Ils sont utilisés pour le nettoyage des souillures de nature minérale. Ils agissent en dissolvant les dépôts minéraux. En fonction de la concentration utilisée, ces détergents peuvent être plus ou moins corrosifs. Il faut donc des équipements de protection individuels adaptés pour protéger les opérateurs. Ils contiennent le plus souvent de l'acide phosphorique, de l'acide nitrique ou de l'acide chlorhydrique dilué[07].

Les agents tensioactifs

Les tensioactifs sont des composés amphiphiles capables de modifier la tension superficielle entre deux surfaces.

Le tensioactif est constitué par deux groupements :

- Un groupement soluble dans l'huile qui est dit lipophile et apolaire de type hydrocarboné (alkyle ou alkyle benzène).
- Un groupement polaire constitué par des hétéroatomes (oxygène, soufre, phosphore, ou azote, ...) portés sur les groupes alcool, acide, sulfate, sulfonate, amine, ... [08].

Types des tensioactifs

Il existe quatre types de tensioactifs basés sur les propriétés des parties hydrophiles, selon qu'elles portent une charge positive, négative, les deux ou aucune, on les qualifie en tensioactif cationique, anionique, non-ionique et zwitterionique ou amphotère [08].

I.3.2.7 Solvant de nettoyage

L'eau est considérée comme le solvant le plus utilisé, est un solvant polaire universel capable de dissoudre un grand nombre des composés polaires organiques et inorganiques. Il offre beaucoup d'avantages notamment par son innocuité vis-à-vis du personnel et de l'environnement et par son coût faible.

L'eau a quelques inconvénients, à savoir qu'elle possède un effet nocif sur l'acier inoxydable, mais également elle est capable de rouiller ou d'altérer progressivement les différentes parties des équipements.

Le paramètre déterminant la qualité de l'eau pour la détergence est le titre hydrométrique ou la dureté, qui reflète la quantité de calcium et de magnésium dissous dans l'eau sous forme de bicarbonate.

Plusieurs solvants organiques, solubles ou rendus solubles dans l'eau, par l'action des agents hydrotropes, sont aussi utilisés dans les préparations détergentes lorsque l'emploi de l'eau s'avère inefficace ou nocif pour le matériel tels que les solvants chlorés (chlorofluorocarbène, chlorométhylène), les solvants cétoniques (méthyléthylacétone), les esters de glycol, les acétates, les lactates, les glycoéthers, ...etc.

Le coût élevé et les problèmes sur la sécurité des opérateurs effectuant le nettoyage tendent à réduire l'utilisation des solvants organiques.

I.3.2.8 Critères de choix de détergent

Un détergent est choisi de façon à éliminer les souillures sans altérer les surfaces des équipements et ne pas être ni une source, ni un vecteur de contamination

A. Nature de la souillure

La figure suivante décrit le type de détergent à utiliser en fonction de la nature de la souillure.

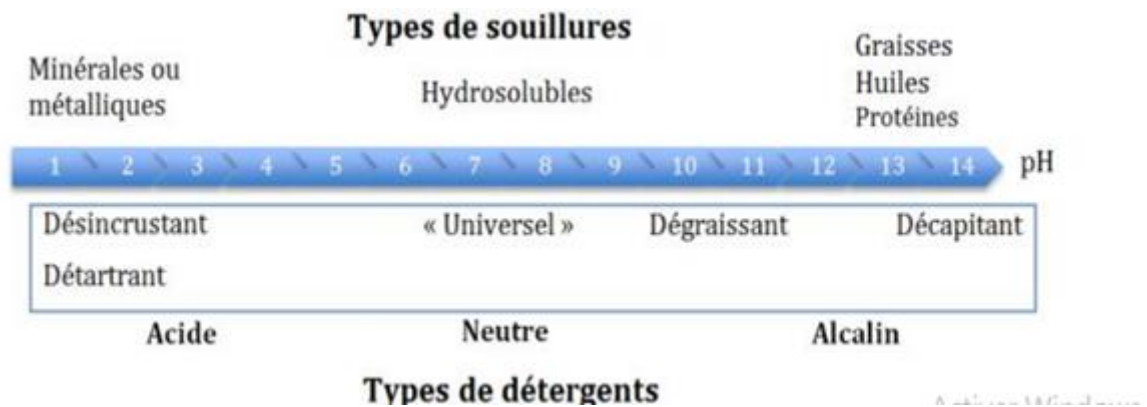


Figure 6: Choix du détergent en fonction de type de la souillure[07].

B. Nature du support à nettoyer

Aucune altération du matériel ne doit avoir lieu. Le maintien de l'intégrité de la surface est le facteur critique[06].

C. Caractéristiques de l'eau

L'eau joue un double rôle dans le nettoyage, d'une part, il sert comme agent de dilution et d'autre part, pour le rinçage. Le détergent doit être soluble dans l'eau et facilement éliminé par rinçage[06].

D. Conditions de nettoyage

(Manuel ou automatique) : Pour le nettoyage automatique, il est préférable d'utiliser un détergent non moussant car il sera plus facile de l'éliminer pendant la phase de rinçage[06].

E. Efficacité du détergent

Si l'installation est multi-produite, on cherche le produit ayant la plus grande efficacité pour nettoyer la souillure la plus difficile à éliminer[06].

F. Impact écologique

Il est préférable que le détergent soit biodégradable et qu'il soit conforme à la législation relative aux rejets des déchets[06].

G. Coûts du détergent

La concentration du détergent dans la solution de lavage doit être optimale afin de rationaliser sa consommation.[06].

H. Détectable

Un bon détergent doit pouvoir être dosable à de faibles concentrations. Ce paramètre est requis dans le cas de la validation du nettoyage[06].

B. Le désinfectant

Désinfection : Elle permet de détruire les microorganismes encore présents sur la surface de l'équipement après le nettoyage [03].

La désinfection est assurée par deux grands types de méthode : physique (chaleur sèche ou humide) et chimique (désinfectant en altérant la perméabilité de la membrane cytoplasmique, par dénaturation des protéines intra-cytoplasmique ou par action direct sur l'ADN des bactéries, ils peuvent être bactéricides, fongicides et virucides ou bactériostatiques et fongistatiques) [08].

Les BPF recommandent de mettre en place une alternance entre plusieurs désinfectants de formulations différentes afin d'éviter les phénomènes de résistance dans les zones à atmosphère contrôlée. Tous les désinfectants retenus devront alors être qualifiés.[01].

I.3.2.9. Les dix principes du nettoyage

Il existe 10 principes à respecter pour garantir la bonne efficacité du procédé de nettoyage [01]:

1. Le processus de nettoyage doit être compatible avec les activités de production et avec la classe d'air de la zone de production (choix et qualification des moyens matériels en fonction).
2. Le processus de nettoyage doit respecter les surfaces à nettoyer (limiter l'abrasivité du procédé de nettoyage, compatibilité des détergents avec les matériaux à nettoyer).
3. Le nettoyage ne doit pas diluer ou étaler la souillure sur les surfaces.

4. Le nettoyage ne doit pas apporter de contamination supplémentaire
5. Le nettoyage ne doit pas transférer de contamination d'une zone vers une autre.
6. Le procédé de nettoyage doit commencer dans la zone la plus critique (qui est la plus sensible à la contamination) pour se terminer dans la zone la moins critique.
7. Le procédé de nettoyage doit se dérouler de la zone la plus sale vers la zone la moins sale (cependant, si ce principe est en contradiction avec le principe 6, le principe 6 est prioritaire).
8. Il faut réaliser le nettoyage d'une zone dans le sens des flux d'air.
9. Le personnel doit être formé et habilité à réaliser les opérations de nettoyage et les équipements doivent être qualifiés. L'opérateur en charge du nettoyage est tenu de respecter le plus justement possible le mode opératoire.
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.

CHAPITRE II
LA VALIDATION DU
NETTOYAGE

Chapitre 02 : la validation du nettoyage

II.1. Définition de la validation et la validation de nettoyage

Plusieurs définitions sont proposées par les différentes organisations on citera quelques-unes :

- Les BPF version 2003 définit la validation 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 »[15].
- 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 »[17].
- Selon la définition du guide orange (1983), la validation est « l'action de prouver que tout matériel, procédé, système ou mécanisme utilisé pour la fabrication ou le contrôle est capable de conduire, conduit effectivement et conduira au(x) résultat(s) attendu(s)»[18].
- La définition de validation selon les GMPs est «Établir des preuves documentées qui fournit un degré élevé d'assurance qu'un processus spécifique sera constamment un produit conforme à ses spécifications prédéterminées et les attributs de qualité » [19].
- Selon les BPF « La validation du nettoyage est une information documentée qu'une procédure de nettoyage approuvée élimine le produit ou les agents utilisés préalablement pour nettoyer l'équipement, de manière reproductible, en dessous du niveau de contamination résiduelle maximale autorisée déterminé scientifiquement » [01].
- Selon la commission de la SFSTP « Valider un procédés de nettoyage, c'est de démontrer scientifiquement, de manière documentée, que les différentes étapes d'un procédé de nettoyage, conduisent à obtenir une surface ne comportant pas de contamination résiduelle supérieure à une limite préalablement fixée et ceci d'une manière reproductible » [28].

À la lumière de ces définitions, la validation est le moyen d'assurer et de fournir des pièces justificatives que les processus de production pharmaceutique sont capables de produire systématiquement un produit fini de la qualité requise.

II.2. But de la validation

La validation du nettoyage est une exigence réglementaire assure que l'application des méthodes de nettoyage permet d'obtenir un matériel propre de façon reproductible.

Elle a deux intérêts :

- Assurance qualité
- Intérêt économique [08].

II.2.1. Validation et qualité

La norme ISO 8402-94 définit la qualité comme étant « Ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites du client » [16].

Chaque industrie pharmaceutique doit se concevoir et se mettre en œuvre une politique de qualité visant à garantir que les médicaments fabriqués présentent la qualité requise.

Le maintien de la qualité des produits pharmaceutiques exige, entre autre :

- L'assurance de parfait état de propreté du matériel susceptible d'être en contact avec les produits durant le cycle de production.
- La prévention de la contamination croisée.

Le rôle de nettoyage est de rendre le matériel de production propre, il contribue donc à la qualité du produit fini. Il sera donc couvert par l'assurance de la qualité qui devra s'assurer de son efficacité, de son déroulement dans les meilleures conditions et de sa reproductibilité à travers sa validation [08].

II.2.2. Validation et le cout

Pour économiser de l'argent, il faut procéder à une bonne validation dès le début [08] :

- La validation de nettoyage de l'équipement de production permet de réduire ou parfois de supprimer les contrôles à effectuer après chaque nettoyage, ce qui permet de diminuer le coût de l'échantillonnage et de contrôle.
- Pendant la production, la validation permet de réduire le nombre de tests à réaliser sur le produit fini.

- Une diminution des rejets, des retraitements et de re-tests du fait de la bonne maîtrise des procédés.
- Une diminution des accidents de production, des pertes de produits et donc la diminution de pertes financières.
- Amélioration de flux des produits par une diminution du temps de mise en production des projets, des temps d'arrêts de production et des délais de mise sur le marché.

La validation est surtout une démarche de progrès qui par une meilleure connaissance des procédés, permet de réduire les coûts de production et de contrôle.

II.3. Différents types de la validation

La validation d'un procédé c'est la preuve documentée que le procédé mis en œuvre à l'intérieur des paramètres établis peut fonctionner de manière efficace et reproductible pour produire un intermédiaire ou une substance active conforme à ses spécifications et à ses caractéristiques de qualité préétablies [20].

II.3.1. Validation prospective

Ce type de validation est réalisé pour des procédures de nettoyage déjà appliquées. La validation prospective est appliquée aussi à des procédures de nettoyage en cours de développement lors de la fabrication de nouveau produit en prenant en compte les différents aspects réglementaires et les paramètres [01].

Selon les bonnes pratiques de fabrication, elle doit comporter au minimum les éléments suivants [01] :

- Brève description du procédé.
- Liste des équipements/installations destinés à être utilisés au cours de la réalisation de procédé à valider.
- Liste des méthodes analytiques.
- Contrôles au cours de fabrication proposés, assortis des critères d'acceptation.
- Plan d'échantillonnage.
- Méthodes d'enregistrement et d'évaluation des résultats.

II.3.2. Validation simultanée

Ce type peut être conduit lorsque les données sur des lots successifs ne sont pas disponibles, du fait qu'un nombre limité de lots de substance active a été produit, que les lots de substance active sont produits rarement, ou que les lots de substance active sont produits avec un procédé validé qui a été modifié. Avant l'achèvement de la validation simultanée, les lots peuvent être libérés et utilisés dans le médicament final pour la distribution commerciale, sur la base d'une surveillance et d'un contrôle minutieux des lots de substance active [01].

II.3.3. validation rétrospective

Elle peut être faite pour des procédés bien établis qui ont été utilisés sans modification significative de la qualité de la substance active suite à des modifications de matières premières, d'équipements, de systèmes, d'installations ou du procédé de production. La validation rétrospective peut être utilisée lorsque :

- Les caractéristiques de qualité critiques de la substance active et les paramètres critiques du procédé ont été identifiés.
- Les contrôles en cours de procédé et les critères d'acceptation appropriés ont été établis.
- Il n'y a pas eu de défaut critique du procédé, ou du produit, imputable à des causes autres que l'erreur humaine ou pannes des équipements sans rapport avec leur aptitude à être utilisés pour ce procédé.
- Des profils d'impuretés ont été établis pour la substance active existante [01].

II.4. Acteurs de la validation de nettoyage

La validation du nettoyage dans l'industrie pharmaceutique est un processus implique l'ensemble de structures qui doit être mobilisée depuis la conception du procédé de nettoyage jusqu'à sa validation.

II.4.1. Structure chargée de la production

Elle rédige les procédures de nettoyage et assure une formation continue et adaptée aux besoins pour tout le personnel de département [08].

Elle doit veiller le respect des procédures, à la réalisation du nettoyage et à l'inspection visuelle après chaque nettoyage [03].

Le service de production est le responsable de la détermination des paramètres critiques et la vérification des spécifications qui garantissent la qualité de l'installation [08].

II.4.2. Laboratoire de contrôle qualité

C'est une structure pivot dans la validation du nettoyage. Ses tâches sont multiples, les principales sont les suivantes [07] :

- Il s'occupe de valider les méthodes de prélèvements et d'analyser des échantillons.
- Il participe à la rédaction des rapports de validation en compilant les données analytiques conformément aux protocoles d'analyses.

II.4.3. Structure chargée de l'assurance qualité

Elle tient un rôle central car elle se charge de [06] :

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

II.4.4. Service hygiène, sécurité et environnement (HSE)

Le service HSE va également être impliqué pour vérifier que tous les moyens sont mis en œuvre pour ne pas soumettre les opérateurs de nettoyage à des risques sécurité lors des démontages et lavages des pièces des équipements, l'ergonomie du poste de travail doit être adaptée. De même, ils sont en charge de s'assurer de la disponibilité des EPI (Equipements de Protection Personnel) nécessaires [07].

II.4.5. Direction Technique

Elle veille à l'application de la réglementation en matière de validation du nettoyage et sa mise à jour de manière continue et approuve les protocoles et les rapports de validation du nettoyage [06].

II.4.6. Service de qualification/validation

Ce service s'occupe comme son nom l'indique de la réalisation des qualifications des équipements du site et de la validation des procédés de fabrication et de nettoyage. Son rôle est de rédiger les protocoles et les rapports en lien avec la validation de nettoyage. Il s'assure la qualification des équipements avant la réalisation de la validation de nettoyage [07].

II.5. Choix de l'approche de validation

Les équipements pharmaceutiques industriels sont classés en deux catégories [6] :

- Equipements dédiés à utiliser pour la fabrication d'un seul produit, qui est généralement un produit dangereux, sont appelés mono-produit.
- Equipements multi-usagers utilisés pour la fabrication de plusieurs produits, sont appelés multi-produit.

La validation des procédés de nettoyage est effectuée sur tout équipement utilisé lors de la fabrication d'un produit et qui est en contact direct avec ce dernier, mais il faut également accorder une attention aux parties de l'équipement qui ne sont pas en contact direct avec le produit mais dans lesquelles les produits peuvent se loger telles que les arbres rotatifs ou les jointes.

Pour valider le nettoyage des équipements dédiés, une approche « simplifiée » est mise en place, elle consiste à valider le nettoyage de chaque équipement après la fabrication de tout produit grâce au faible nombre de combinaisons équipement/produit possibles.

Une telle approche est difficilement réalisable pour une usine multi-produite en raison du nombre élevé des combinaisons équipement/produit et la fréquence élevée d'introduction de nouveau produit dans le processus de fabrication.

Selon la politique de l'entreprise, la solution de valider l'ensemble des équipements multi-usagers non dédiés ce fait par une méthodologie de groupage grâce à une analyse matricielle:

- Une matrice est préparée pour identifier l'équipement « pire cas ».
- Une matrice est préparée pour identifier le produit « pire cas ».
- Une matrice est préparée pour identifier le couple équipement/produit « pire cas ».

L'application de l'approche « matricielle » demande une connaissance parfaite de l'environnement dans lequel les validations vont être réalisées ce qui permet de grouper les produits fabriqués et les équipements par famille.

II.6. Pré-requises à la validation de nettoyage

Avant d'envisager toute validation, certaines démarches doivent avoir été effectuées, il s'agit de [03]:

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

II.6.1. Rédaction de la procédure de nettoyage

Dans la plupart des cas, les sites de production pharmaceutique utilisent les mêmes équipements pour fabriquer plusieurs produits différents. Pour éviter une contamination du produit, des procédures de nettoyages sont indispensables [11]. Les BPF exigent que les procédures de nettoyage comportent « les opérations à effectuer, les précautions à prendre, ou les mesures à prendre, dans un domaine directement ou indirectement en rapport avec la fabrication des médicaments »[01].

Pour mettre en place une validation de nettoyage, des modes opératoires ou des instructions écrites de nettoyage doivent être rédigés au préalable. Ceux-ci ont pour fonction de donner les informations détaillées et séquentielles nécessaires à la réalisation du nettoyage. Les points clés sont les suivants [11] :

- Objet : nettoyage des locaux, des équipements.
- Niveau de propreté à atteindre : propreté visuelle, propreté chimique, microbiologique, particulière.
- Description des surfaces générales ou des locaux à nettoyer.
- Citer les agents de nettoyage employés et les conditions d'emploi.
- Citer le personnel et sa qualification, les responsabilités de chacun.
- Citer les précautions particulières (sécurité, consignes d'exploitation).
- Décrire le mode opératoire proprement dit, préciser le type de nettoyage.

- Décrire les conditions dans lesquelles sont maintenus locaux, matériels et équipements.
- Préciser les contrôles, vérifications, enregistrements.
- Indiquer la conduite à tenir lors de l'observation d'anomalies et actions correctives à mettre en place.

Les fiches de suivi garantissent la traçabilité du nettoyage: elles sont complétées par l'opérateur ou informatiquement dans le cas de nettoyages automatiques. Elles comprennent [11] :

- Type et désignation du matériel.
- Date et heure.
- Numéro de lot du produit fabriqué avant nettoyage.
- Enregistrement des paramètres et des différentes étapes tels que définis dans la procédure de nettoyage (durée, température)
- Etat du matériel après nettoyage (ex : « visuellement propre »)

La démarche adoptée pour la rédaction d'une procédure de nettoyage est schématisée dans la figure suivante :

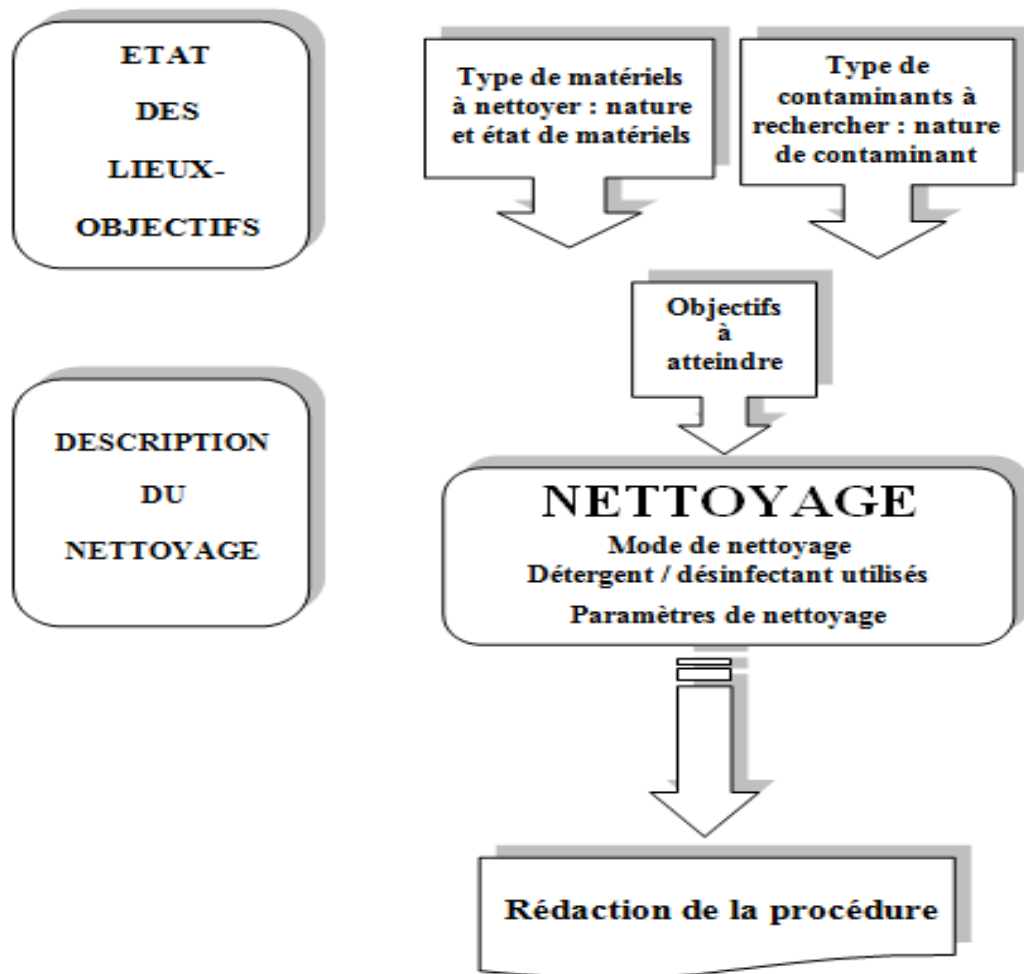


Figure 7 : Organigramme de démarche adoptée pour la rédaction d'une procédure de nettoyage [11]

II.6.2. Qualification des locaux et équipements a nettoyé

La qualification du matériel est une opération destinée à démontrer qu'un matériel, installé dans un local convenable, fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus [4].

Elle permet de maîtriser les équipements afin de garantir la reproductibilité des procédés, la qualité du produit fabriqué, d'assurer la sécurité des opérateurs et protéger l'environnement.

La qualification des équipements se fait en plusieurs étapes [3] :

- **La qualification de conceptions (QC) :** Selon les BPF, cette étape est définie comme (vérification documentée que la conception proposée des installations, systèmes et équipements convient aux usages auxquels ils sont destinés) [02].

- **La qualification d'installation (QI) :** La qualification d'installation est une méthode permettant d'établir avec assurance que tous les principaux équipements et tous les systèmes accessoires sont conformes aux spécifications de l'installation, aux manuels de l'équipement, aux schémas et aux dessins techniques de l'équipement et enfin que le système atteigne ou dépasse les spécifications du fournisseur.

- **La qualification opérationnelle (QO) :** Elle a pour but de tester les performances « à vide » de l'équipement. Il s'agit selon les BPF de vérifier que « toutes les fonctions essentielles d'un équipement ou d'un système fonctionnent selon leur spécifications de conception ». Il s'agit de tester le fonctionnement de l'équipement dans les conditions normales de production et dans les conditions « worst case ». Le nombre d'essais doit être suffisant pour assurer la fiabilité et la reproductibilité des résultats le worst case, selon les BPF, est une « 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 ». En résumé, il s'agit des conditions les plus défavorables envisageables lors de l'utilisation normale. Elles ont été déterminées lors de l'analyse de criticité [11].

- **La qualification de performance (QP) :** Selon les BPF, il s'agit de 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 » [01].
La qualification des performances a pour objet de s'assurer du bon fonctionnement de l'équipement dans son ensemble. La QP est une démarche globale, elle permet de démontrer que l'équipement fonctionne conformément aux spécifications appropriées à son utilisation en routine [06].

II.6.3. Qualification du personnel charge du nettoyage

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

Le personnel doit recevoir une formation continue à la bonne application de la procédure de nettoyage en respectant les principaux paramètres influençant le nettoyage (température, temps de nettoyage, concentration de détergent, action mécanique,...) pour avoir un niveau de propreté adéquat à la fabrication des médicaments [08] .

La qualité du nettoyage repose sur la bonne application des procédés, et donc sur la bonne formation des opérateurs aux procédures de nettoyage.

II.6.4. Qualification du matériel et des agents de nettoyage

Qualifier un agent de nettoyage est de prouver qu'il est adapté au mode de nettoyage, qu'il n'altère pas la surface à nettoyer et qu'il ne génère ni transfère des contaminants [08].

Le matériel de nettoyage est sélectionné en fonction du niveau de risque pour le produit et l'environnement. Chaque outil de nettoyage doit être identifié (par exemple balais, brosses, éponges...). Pour les consommables, le fournisseur doit transmettre la nature chimique des impuretés relarguées, il doit également garantir la constance de leur qualité [02].

Le fournisseur de détergent doit être agréé. Il doit disposer un système d'assurance qualité certifié (norme ISO, Afnor..). Il doit fournir à la firme pharmaceutique, la documentation et les informations nécessaires pour la bonne utilisation du produit, on parle donc de [02] :

- La composition et un bulletin d'analyse
- Les données de sécurité
- Le mode d'emploi
- Les méthodes de dosage
- Les méthodes de recherche de traces

II.7. Stratégie de la validation de nettoyage

La stratégie de validation du nettoyage varie selon la gamme des produits fabriqués dans l'industrie et aussi selon les équipements utilisés, c'est pourquoi chaque industrie doit adopte sa propre stratégie de validation.

La validation dans un site multi-produit est complexe et couteuse c'est pourquoi une démarche est utilisé a fin de minimisé le cout et facilité la tâche [08].

Selon la politique d'entreprise, il peut être choisi de valider le nettoyage sur l'ensemble des produits, ou de simplifier la réalisation en appliquant une méthodologie de groupage. Ce concept est basé sur une réflexion préliminaire qui consiste en la détermination d'un ou plusieurs « pire(s) des cas » puis la validation de nettoyage est effectuée sur ce « pire des cas ». La réalisation de la validation de nettoyage est ensuite considérablement allégée du fait que tous les produits concernés par la même procédure de nettoyage et n'était pas le « pires de cas » sont implicitement validés. Il est important de noter que cette démarche n'est acceptée par les autorités que dans la mesure où chaque choix est justifié et documenté [08].

Sur les sites multi-produits non dédiés, une méthode de groupage est souvent nécessaire afin d'éviter de multiplier les validations, surtout quand un nombre important de principes actifs sont fabriqués. La stratégie développée ci-dessous s'applique donc aux sites multi-produits, mais également aux sites mono-produits. Le cas particulier de ces sites, comme nous l'avons vu, est la fabrication d'un produit unique, ne nécessitant en l'occurrence aucune méthode de groupage [04].

II.7.1. Validation du nettoyage selon l'ancienne approche (approche traditionnelle)

II.7.1.1 Sélection du contaminant à chercher

Le choix du contaminant à rechercher dépend de la nature et du niveau de risque des produits fabriqués et de leur environnement.

A. Contaminant chimique

❖ Résidus médicamenteux

Ils sont issus de la formulation des médicaments, ils sont présentés par [08] :

- Les résidus de principe actif et/ou excipient du produit précédent.
- Les résidus des produits de dégradation ou de neutralisation du produit fabriqué.
- Les résidus de substance chimique ajoutée par erreur dans les médicaments au cours de production.
- Conservateurs et antioxydants entrant dans la formule de produit précédemment fabriqué.

❖ Résidus des moyens de nettoyage

Ces résidus chimiques sont issus du [08] :

- **Résidus de détergent et/ou désinfectant** : la recherche d'éventuelle trace de détergent est encore souvent ignorée lors de la validation de nettoyage bien que celle-ci soit une exigence de la FDA. Les études toxicologiques sont parfois disponibles auprès de fabricant. Celui-ci peut alors fournir des données concernant une éventuelle toxicité. A défaut, il faudra considérer le produit comme nocif.
- **Lubrifiants, substances chimiques re-larguées par l'équipement** : éclats de verre, peinture, métaux,...
- **Produits chimiques générés par les produits de maintenance des équipements.**

B. Contaminant microbiologique

Pour les médicaments non obligatoirement stériles (médicaments à usage par voies orales, rectales ou à application cutanée), deux types de tests microbiologiques sont exigés par la pharmacopée européenne, à savoir, le dénombrement microbien et la recherche des germes spécifiés [06].

❖ Dénombrement microbien

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

✚ Dénombrement des Germes Aérobie Totaux (DGAT)

Ce test permet le dénombrement des bactéries qui poussent en aérobiose sur un milieu gélosé aux peptones de soja et de caséine à 30 – 35°C pendant 3 – 5 Jours. A la fin du test, le nombre d'unité formant colonie (UFC) est calculé[07].

✚ Dénombrement des Moisissures et des Levures Totales (DMLT)

Ce test permet le dénombrement des levures et des moisissures sur un milieu sabouraud-dextrosé – gélosé à 20 – 25°C pendant 5 – 7 Jours. A la fin du test, le nombre d'unité formant colonie (UFC) est calculé [07].

Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés selon la pharmacopée européenne comme suit :

- « Le nombre de germes aérobies totaux (DGAT) est considéré comme égal au nombre d'UFC obtenues avec le milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja ; si des colonies de moisissures ou levures sont détectées sur ce milieu, elles sont comptabilisées dans le DGAT»[07].
- « Le nombre total de moisissures et de levures (DMLT) est considéré comme égal au nombre d'UFC obtenues avec le milieu Sabouraud-dextrosé-gélosé ; si des colonies de bactéries sont détectées sur ce milieu, elles sont comptabilisées dans le DMLT. Si l'on prévoit que le DMLT risque de dépasser le critère d'acceptation du fait de la croissance bactérienne » [09].

❖ Recherche des germes spécifiés

Les tests microbiologiques regroupés sous ce titre ont pour objet de contrôler l'absence ou la présence limitée des microorganismes spécifiés pouvant être décelés dans des conditions appropriées. Les microorganismes recherchés dans le cadre des essais microbiologique des produits pharmaceutiques et qui peuvent être à l'origine de la contamination lors de la validation du nettoyage sont [07]:

✚ Microorganismes aérobies

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

II.7.1.2. Validation du nettoyage selon l'approche pire-cas

Comme toute étude de validation, la validation de nettoyage doit inclure les conditions «worst case ». A ce propos, les BPF stipulent qu' « Une seule étude de validation peut être réalisée en se fondant sur la méthode du « pire des cas » » [01].

A. Détermination du produit « WORST-CASE »

Il est présumé que si un équipement devient propre dans les conditions défavorables, il sera aussi nettoyé dans les conditions plus favorables. La stratégie de regroupement permet de classer dans la même famille, les produits ayant les formulations et les caractéristiques physico-chimiques très proches ou analogues. On établit les critères de regroupement des produits en se basant sur les caractéristiques communes et les similarités, telles que [08]:

- Voie d'administration : orale, parentérale,...
- Forme : comprimé, liquide, crème,...
- Equipements requis de fabrication et/ou de conditionnement.
- Méthode de nettoyage : nettoyage manuel, semi-automatique, automatique.

Une fois que l'on a effectué un regroupement logique et scientifique, il faut mettre en place le scénario représentant le pire des cas.

La sélection d'un produit pire des cas est basée sur les paramètres physico-chimiques et microbiologiques :

❖ Solubilité des principes actifs

La solubilité est la quantité maximale d'une substance qui peut être dissoute dans un volume d'un solvant. C'est un rapport numérique qui exprime une quantité de matière par rapport à un volume d'un solvant [10].

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

Tableau 2: Termes descriptifs de la solubilité selon la pharmacopée européenne [09].

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

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

❖ Difficulté de nettoyage (nettoyabilité)

La nettoyabilité d'un médicament est l'aptitude d'un procédé à ne pas laisser des traces visibles après nettoyage d'un équipement et à l'issue de sa fabrication. L'évaluation de ce critère repose sur un historique de nettoyage des équipements après fabrication de chaque produit. Un opérateur qualifié et expérimenté dans le nettoyage est souvent consulté pour noter ce critère [08,21].

Tableau 3 : Grille de cotation de la nettoyabilité des principes actifs [06].

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

On fait des entretiens avec les opérateurs et les superviseurs. Une fiche normalisée de questions pourrait être utilisée dans laquelle les réponses sont notées.

❖ Toxicité

En termes de validation du nettoyage, la toxicité évalue le risque de la contamination sur la santé humaine, elle est chiffrée par la dose létale 50 (DL 50), « c'est la quantité d'une substance qui cause la mort de 50% d'une population d'animal, soumise à l'étude de toxicité aiguë par une voie d'administration. Elle est exprimée en quantité de la substance (en mg ou en g) par unité de poids corporel de l'animal (en Kg) [08].

Tableau 4 : Echelle de toxicité établie par Hodge et Sterner[06].

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

❖ Scores de criticité

Un moyen de définir un traceur est d'attribuer, pour chaque critère étudié, des valeurs dans une échelle préalablement établie. Le « score de criticité » de chaque produit est alors calculé comme le produit de ces facteurs, et le produit au score le plus élevé sera choisi pour la validation de nettoyage. Cette démarche permet de tenir compte de tous les facteurs influençant la criticité des produits [11].

B. Regroupement des matériels (similarité)

On procède à une identification de tous les équipements concernés par la validation de nettoyage, la surface totale de contact pour chaque équipement avec les produits fabriqués est déterminée. L'identification et le regroupement des points critiques de chaque équipement est essentiel, comme le cas des produits, les équipements par famille en cas de similitude.

Deux équipements sont appelés identiques, s'ils sont construits par les mêmes matériaux et possèdent les mêmes caractéristiques (volume, taille, géométrie,...) et deux équipements sont

similaires lorsqu'ils sont construits par les mêmes matériaux mais possèdent des caractéristiques différentes.

Pour justifier que les équipements sont identiques ou similaires, il faut apporter les rapports de la qualification d'installation et la qualification opérationnelle [08].

Les critères de regroupement des équipements peuvent être basés sur les caractéristiques suivantes [08]:

- Accessibilité.
- Complexité des équipements.
- Mode de fonctionnement.
- Facilité de désassemblage.
- Points critiques (présence des endroits difficiles à nettoyer).
- Méthodes (nettoyage manuel, semi-automatique, automatique) et paramètres de nettoyage (température, pression du procédé,...) communs.
- Taille de l'équipement.

Une fois le regroupement des équipements a été effectué, la validation de nettoyage d'un élément du groupe (l'équipement représentatif de l'ensemble) entraîne celle de l'ensemble des éléments de ce groupe.

C. Matrice de groupage produits-équipement

Pour rendre la méthodologie de groupage plus efficace. Il s'agit d'une approche matricielle réalisée grâce aux données recueillies.

L'approche matricielle permet d'identifier les conditions les plus critiques c'est-à-dire où le nettoyage est le plus difficile. Pour cela, il faut créer une matrice regroupant les produits à nettoyer et les équipements mis en jeu dans la fabrication des produits et déterminer le pire-cas.

Tableau 5 : une matrice reliant les équipements aux produits fabriqués

Produit et forme galénique	Liste des équipements		
	Équipement A	Équipement B	Équipement C
Produit A	×		×
Produit B	×	×	×
Produit C	×		×
Produit D		×	×

D. Groupage et base de données

Afin de faciliter la validation du nettoyage, et notamment d'avoir une vision globale des produits et des équipements concernés par la validation, une base des données peut s'avérer être une aide précieuse. L'ensemble des procédés de fabrication du site ainsi que les différentes étapes successives, précisant les matériels et équipements, sont saisis. Une consultation de la base permet d'obtenir rapidement une matrice équipements-produits suivant les différents ateliers de production et permet d'identifier les équipements critiques [04].

II.7.1.3. Critères d'acceptation

La courbe d'élimination des salissures est une courbe exponentielle. Un nettoyage parfait n'est atteint qu'au bout d'un temps infini. En conséquence, le nettoyage n'est jamais parfait, et il demeure une certaine quantité résiduelle à la fin de tous les nettoyages[08].

De point de vue réglementaire, il n'existe pas d'exigences relatives aux critères d'acceptation, compte tenu de la multitude des produits fabriqués et des différentes formes existantes. Cependant, le guide de la FDA précise que les limites doivent être logiques, pratiques, réalisables et vérifiables.

La contamination maximale résiduelle tolérable doit être déterminée de manière scientifique et documentée. Donc site industriel pharmaceutique fixe et justifie les critères d'acceptation étant les mieux appropriés à son activité.

A. Critères d'acceptation des contaminants chimiques

Pour déterminer les critères, il faut prendre en compte [08] :

- **la contamination du produit précédent** : sa nature, sa dose thérapeutique, sa toxicité (pour les détergents),
- **l'équipement** : la surface du train d'équipement en contact avec le produit,
- **le lot suivant** : taille de lot et nombre d'unité de prise journalière maximale.

❖ Résidus médicamenteux

✚ Critère visuel

Même s'il est préférable d'utiliser une méthode quantitative, le critère visuel a son importance. Le caractère visuellement propre est une exigence réglementaire, il s'agit du premier pré-requis à la validation de nettoyage : ce critère qualitatif est basé sur l'observation des surfaces et des équipements et est conforme si l'on n'observe aucune trace de produit ou solvant, collé ou séché, de coulure, coloration, souillures, cristaux ou odeurs sur les surfaces nettoyées et sèches [03].

La propreté visuelle doit être préalable à toute autre méthode de détermination des résidus. Les quantités pouvant être détectées par l'observation visuelle des surfaces intérieures de l'équipement sont de l'ordre de 1-20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. À l'aide d'une illumination visible ou UV à 340-380 nm, la sensibilité est multipliée par 3 à 4 fois [11].

✚ Critère du millième

D'après ce critère, on ne doit pas retrouver plus d'un millième de la dose thérapeutique du produit A (facteur de sécurité fixé à 1000) dans la dose journalière maximale du produit suivant B[07].

- **Pour le prélèvement par écouvillonnage** : La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante [07] :

$$\text{Limite résiduelle écouvillonnage} = \frac{T_A \cdot L_B \cdot A_s \cdot 10^6}{T_B \cdot W_s} \quad (\mu\text{g}/\text{surface prélevée})$$

Avec :

T_A : Dose thérapeutique journalière minimale du produit précédent A (contaminant) en mg/jour ;

T_B : Dose thérapeutique journalière maximale du produit suivant B (contaminé) en mg/jour ;

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

A_s : surface prélevée en m² (souvent AS = 100 cm² = 0,01 m²) ;

W_s : Surface commune (de contamination) entre le produit A et le produit B en m².

- **Pour le prélèvement par les eaux de rinçage** : La limite résiduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rinçage est donnée par la formule suivante [07];

$$\text{Limite résiduelle eaux de rinçage} = \frac{T_A \cdot L_B \cdot 10^3}{T_B \cdot V} \quad (\mu\text{g/surface prélevée})$$

Avec :

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

✚ Critère des 10 ppm

Au maximum, 10 mg de produit précédent peuvent contaminer 1kg de produit suivant [07].

- **Pour le prélèvement par écouvillonnage** : La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante [07]:

$$\text{Limite résiduelle écouvillonnage} = \frac{10 \cdot L_B \cdot A_s \cdot 10^3}{W_s} \quad (\mu\text{g/surface prélevée})$$

Avec :

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

A_s : surface prélevée en m² (souvent AS = 100 cm² = 0,01 m²) ;

W_s : Surface commune (de contamination) entre le produit A et le produit B en m²

- **Pour le prélèvement par les eaux de rinçage** : La limite résiduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rinçage est donnée par la formule suivante [07] :

$$\text{Limite résiduelle eaux de rinçage} = \frac{10 \cdot L_B}{V} \quad (\mu\text{g/surface prélevée})$$

✚ MACO (Maximal Allowable Carry Over)

La contamination croisée maximale acceptable prend en compte les données toxicologiques, les posologies, la forme pharmaceutique et les tailles du lot des produits. Deux approches sont rencontrées :

Approche faisant appel aux doses thérapeutiques

Cette méthode est utilisée lorsque le traceur est un principe actif [08].

➤ Pour le prélèvement par écouvillonnage

La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante [07].

$$\text{MACO écouvillonnage} = \frac{T_A \cdot L_B \cdot A_S \cdot F_S \cdot 10^9}{T_B \cdot W_S} \quad (\mu\text{g} / \text{surface prélevée})$$

Avec :

MACO : le seuil maximal de produit résiduel en $\mu\text{g}/\text{surface}$ prélevée ;

F_S : facteur de sécurité, dont la valeur dépend de la forme galénique du produit ;

T_A : Dose thérapeutique journalière minimale du produit précédent A en mg ;

T_B : Dose thérapeutique journalière maximale du produit suivant B en mg ;

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

A_S : Surface prélevée en m^2 (souvent $A_S = 100 \text{ cm}^2 = 0,01 \text{ m}^2$) ;

W_S : Surface commune entre le produit A et le produit B en m^2 .

➤ Pour le prélèvement par les eaux de rinçage

La limite résiduelle du produit contaminant A par volume d'eau de rinçage est donnée par la formule suivante ;

$$\text{MACO eaux de rinçage} = \frac{T_A \cdot L_B \cdot 10^6}{T_B \cdot V} (\mu\text{g/ml})$$

Avec :

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

Approche faisant appel à la dose létale 50

Les calculs préliminaires sont les suivants [07] :

$$\text{NOEL} = \text{DL}_{50} \cdot 10^{-4} \qquad \text{ADI} = \text{NOEL} \cdot F_S$$

Avec : NOEL (No Observed Effect Level) : le niveau où aucun effet n'est observé (en mg/kg de poids corporel/jour) ;

DL₅₀ est la dose létale pour 50% d'une population d'animaux, exprimée en mg/kg de poids corporel ; ADI (Acceptable Daily Intake) est le niveau acceptable administré par jour (en mg/kg de poids corporel/ jour).

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

$$\text{MACO écouvillonnage} = \frac{\text{DL}_{50} \cdot 5 \cdot 10^{-4} \cdot 70 \cdot L_B \cdot A_S \cdot F_S \cdot 10^9}{T_B \cdot W_S} \quad (\mu\text{g/surface prélevée})$$

Avec : 70 (kg) représente le poids corporel moyen d'un être humain ;

10⁹ : Facteur de conversion du Kg au µg.

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

$$\text{MACO eaux de rinçage} = \frac{\text{DL}_{50} \cdot 5 \cdot 10^{-4} \cdot F_S \cdot L_B \cdot 10^6}{T_B \cdot V} \quad (\mu\text{g/ml})$$

Avec :

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

➤ **Limite résiduelle acceptable ARL (Acceptable Residual Level) :**

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

- ✓ **Pour le prélèvement par écouvillonnage:** La limite résiduelle du produit contaminant A par unité de surface prélevée est donnée par la formule suivante [07];

$$\text{ARL écouvillonnage} = \frac{T_A \cdot F_S \cdot 10^6}{T_B} \times \frac{L_B \cdot A_S \cdot 10^6}{W_S} \quad (\mu\text{g/surface prélevée})$$

$$\text{MAR} = \frac{T_A \cdot F_S \cdot 10^6}{T_B} \quad (\text{ppm})$$

Donc
$$\text{ARL écouvillonnage} = \frac{\text{MAR} \cdot L_B \cdot A_S \cdot 10^6}{W_S} \quad (\mu\text{g/surface prélevée})$$

Avec :

ARL : Limite résiduelle acceptable ;

MAR (Maximum Allowable Residual) : Chiffre la contamination du produit B par un produit A en tenant compte de la voie d'administration, il est exprimé en partie par million (multiplication par 10^6). Si $\text{MAR} > 10$ sa valeur est arrondie à 10 (limite de 10 ppm).

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

$$\text{ARL eaux de rinçage} = \frac{\text{MAR} \cdot L_B}{V} \quad (\mu\text{g/ml})$$

Avec : V est le volume d'eau de rinçage en litre utilisé pour le rinçage final.

❖ **Résidus d'agent de nettoyage**

La plupart des fournisseurs ne donnent pas à l'utilisateur la composition exacte de détergent utilisé, ce qu'il est difficile d'entreprendre une recherche des traces de constituants.

Le nombre des constituants des agents de nettoyage doit être limité au minimum nécessaire pouvant assurer un nettoyage efficace. Il n'existe pas de réglementation spécifique sur

les limites d'acceptation des résidus des détergents. L'inspection visuelle pour la détection des produits de nettoyage sur les équipements de production doit être réalisée afin d'affirmer l'élimination des produits de nettoyage après le rinçage pour prouver l'inertie et l'innocuité de détergent [08].

Des études toxicologiques de détergent doivent être établies par le fabricant, à partir de ces données, il est possible de calculer les limites de la quantité résiduelle tolérée de détergent, comme le cas de produit pire des cas, en appliquant la formule de MACO vue précédemment.

B. Critères d'acceptation microbiologique

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

Tableau 6: Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles (Pharmacopée européenne 6ème éd).

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

II.7.1.4.Méthodes de prélèvement dans l'industrie pharmaceutique

Dans les BPF partie II Validation de nettoyage : «l'échantillonnage doit inclure l'écouvillonnage, le rinçage ou une méthode alternatif appropriée a fin de détecté à la fois les

résidus soluble et les résidus insolubles. Les méthodes échantillonnage utilise doivent être capables de mesure quantitativement les niveaux de contaminant résiduels sur la surface des équipements après leur nettoyage » [01].

Il existe trois types d'échantillonnage jugés acceptables :

- Echantillonnage direct de la surface : swab test (essuyage, écouvillonnage, contact).
- Echantillonnage indirect : récupération des eaux de rinçage (aspersion).
- Méthode par placebo

A. Echantillonnage direct des surfaces

Cette méthode est encore connue sous le nom de « swabsampling » ou « swabing ».

Le prélèvement direct de surface s'applique à tous les types de surface et à tous les équipements de production. Le swab peut être de différentes natures : un écouvillon, une compresse tissée ou non tissée, une empreinte de gélose ou un morceau de tissu (ou autre support) imprégné d'un solvant.

Il faut choisir le matériel d'échantillonnage de façon que ses matières extractibles ne soient pas interférées avec les résidus recherchés.

On distingue 3 méthodes différentes: par essuyage ou swabbing, par écouvillonnage et par contact. Les supports servant au prélèvement peuvent être utilisés tels quel ou bien imprégnés d'un solvant pour permettre une meilleure récupération des contaminants à rechercher.

❖ La méthode par essuyage ou swabbing

Pour cette technique, la surface à prélever doit être de taille connue. Un swab (sorte de coton tige), est imprégné d'un solvant d'extraction puis est appliqué sur la surface de l'équipement pour récupérer les résidus suite au nettoyage. La technique d'essuyage de la surface doit être décrite dans une procédure de façon à obtenir une bonne efficacité et reproductibilité dans la méthode de prélèvement. La personne en charge du prélèvement doit être formée au mode opératoire de prélèvement de façon à garantir la bonne efficacité et reproductibilité du prélèvement[07].

❖ La méthode par contact

Cette méthode est utilisée pour la recherche de contaminants microbiologiques. On applique des boîtes contact (constituées de milieux gélosés spécifiques ou non), la boîte est utilisée avec un applicateur qui permet d'appliquer une force constante et reproductible d'un opérateur à l'autre directement sur la surface de l'équipement puis elles sont mises directement en culture à l'étuve [07].

❖ La méthode par écouvillonnage

Cette méthode se rapproche de la méthode par swabbing mais elle est utilisée pour la recherche de contaminants microbiologique. L'écouvillon permet d'accéder à des zones impossibles d'accès avec une boîte de contact. L'écouvillon est ensuite mis dans un milieu de culture favorable à la croissance bactérienne [07].

B. Les méthodes indirectes

La méthode indirecte de prélèvement se fait par les eaux de rinçage. On prélève à un certain point de l'équipement un volume défini de la dernière eau de rinçage (le volume doit être déterminé par avance en fonction de la méthode d'analyse qui sera utilisée par la suite). Cette méthode est utilisée quand il n'est pas possible d'aller réaliser les prélèvements par méthodes directes dans l'équipement ou que la surface de l'équipement est trop petite [03].

C. Méthode par placebo

Cette méthode consiste à fabriquer un lot placebo (médicament sans principe actif) du même produit et de rechercher les traces de ce principe actif dans ce placebo. Le coût de revient de ce mode de prélèvement est assez élevé, de ce fait, il est rarement utilisé. Il permet de compléter une validation du nettoyage au cas d'un mauvais nettoyage [11].

D. Validation des méthodes de prélèvements

La validation de la méthode de prélèvement est une étape obligatoire. Elle a pour but de s'assurer que cette méthode de prélèvement permet de récupérer de façon adéquate le résidu contaminant présent sur les surfaces. Ceci est démontré par une étude des taux de recouvrement. Le taux de recouvrement est défini comme le rendement obtenu après contamination d'une surface déterminée par une quantité connue de traceur. Les études des taux de recouvrement

consistent à déposer une quantité connue de traceur sur un support de prélèvement. La surface est échantillonnée par la méthode que l'on cherche à valider et l'échantillon est analysé par la méthode analytique validée [03].

$$R(\%) = \frac{\text{quantité de résidu trouvée après échantillonnage}}{\text{quantité de résidu déposé}} \times 100$$

Il doit être utilisé pour ajuster les résultats analytiques obtenus afin de compenser le recueil incomplet des résidus et refléter ainsi la contamination potentielle. Les taux de récupération acceptables doivent être supérieurs à 70%.

Tableau 7 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de prélèvement [03].

AVANTAGES	INCONVENIENTS
Prélèvement direct	
Conformité aux exigences de la FDA et aux recommandations des BPF	Le plan d'échantillonnage doit être Représentatif
Meilleure connaissance de la répartition de la contamination dans l'équipement	
Possibilité de modélisation au laboratoire du taux de récupération	Difficulté de réalisation sur le terrain (accessibilité, reproductibilité,...)
Concentration importante de l'échantillon permettant une détection analytique plus facile que dans le cas des eaux de rinçage	Validation de la méthode analytique lourde
Possibilité de récupérer des résidus qui nécessitent une action physique et mécanique (résidus séchés sur les surfaces)	Nécessité de valider les critères suivants : <ul style="list-style-type: none"> ↳ Taux de recouvrement ↳ Calculs des surfaces des équipements ↳ Rendement d'extraction des échantillons
Possibilité d'évaluer la contamination des endroits difficiles à nettoyer	
Adapté à de nombreux équipements	
Prélèvement indirect	
Permet l'échantillonnage de surfaces non accessibles	La contamination résiduelle ne peut pas être cartographiée
Calcul de la surface de chaque équipement non nécessaire	Non utilisable sur tous les équipements
Augmentation du taux de récupération possible par évaporation du solvant	Problèmes de sécurité et coût de mise en œuvre pour les autres solvants que l'eau
Contamination plus représentative de l'ensemble des surfaces à évaluer	Connaître le volume total de fluide de rinçage
Méthode placebo	
Simulation des conditions réelles de fabrication	Utilisable seulement lorsque la contamination est récupérée de façon homogène dans le placebo, donc non applicable pour les formes solides, plutôt applicable pour les formes liquides
Mise en œuvre facile	Temps d'immobilisation des équipements et donc cout élevé
Pas de développement de nouvelle méthode analytique lorsque la sensibilité le permet	Impossible d'effectuer une cartographie de la contamination résiduelle Le risque de trop grande dilution peut poser des problèmes de seuil de détection de la méthode analytique

II.7.1.5.Méthodes d'analyse

Dans le cadre de la validation du nettoyage, des outils analytiques puissants qui permettent de détecter les traces de contaminants (chimiques ou microbiologiques) sont exigés.

Chaque méthode doit faire objet de validation préalable conformément aux exigences réglementaires en vigueur.

A. Méthodes d'analyse physicochimique

Pour vérifier la propreté d'un équipement, une relation étroite doit exister entre la nature des contaminants à rechercher, les limites d'acceptation préétablies, les méthodes de prélèvement sélectionnées et les méthodes analytiques à mettre en œuvre. La méthode d'analyse doit être suffisamment sensible pour pouvoir détecter (limite de détection) mais aussi quantifier (limite de quantification) le produit identifié comme « worst case »[08].

Il existe deux grands types de méthodes analytiques pour la recherche des contaminants chimiques : les méthodes spécifiques et non spécifiques :

❖ Méthodes d'analyses non spécifiques

Ces méthodes permettent de doser directement le principe actif dans les prélèvements (écouvillonnage et eaux de rinçage) [06] :

✚ Caractères organoleptiques

Ce sont des méthodes qualitatives faisant appel aux organes sensoriels : contrôle de l'odeur, la couleur, l'aspect,...de la surface à échantillonner [06].

✚ Résistivité/conductivité

La conductivité permet de mesurer la concentration des solutés ionisables présents dans l'échantillon. La mesure est proportionnelle à la quantité des éléments électriquement actifs, donc essentiellement des minéraux [10].

✚ pH-métrie

Le pH d'une solution aqueuse est le cologarithme décimal de l'activité de la solution en ions hydronium. Sa détermination est effectuée par mesure de la différence de potentiel entre deux électrodes judicieusement choisies plongées dans la solution à examiner [10].

✚ Détection de carbone organique total (COT)

C'est une méthode appliquée aux produits organiques et hydrosolubles. L'échantillon de contaminants contenant des composés carbonylés est introduit dans un tube et chauffé à une température appropriée en présence d'un catalyseur agissant comme oxydant. Les composés de combustion et de dégradation sont sous forme de CO₂ qui est analysé et quantifié par comparaison à une courbe d'étalonnage.

La quantité de CO₂ trouvée est proportionnelle à la concentration de contaminants résiduels dans l'échantillon.

❖ Méthodes d'analyse spécifiques

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

✚ Méthodes chromatographiques

Procédé de séparation et d'analyse des constituants d'un mélange à l'aide d'un solvant mobile qui les entraîne à travers une phase fixe.

La chromatographie permet de séparer et d'analyser les constituants d'un mélange en le faisant circuler à travers un milieu fixe inerte (alumine, silice.....) à l'aide d'un solvant mobile (gaz, liquide) qui l'entraîne. Chaque constituant adopte une vitesse de migration qui lui propre en fonction de sa solubilité dans la phase mobile et son affinité pour la phase fixe qui tend à la retenir. Finalement on obtient donc la séparation des constituants du mélange initial [13].

- **Chromatographie sur couche mince (CCM)** : La CCM est basée sur une interaction de type électrostatique / liaison hydrogène. Le principe du « qui se ressemble s'assemble »[13].
- **Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)**: Elle est fondée sur des phénomènes d'adsorption, de partage, d'échange d'ions ou d'exclusion. L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie [13].
- **Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**:C'est une technique permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. Elle

s'applique principalement aux composé gazeux ou susceptible d'être vaporisables par chauffage sans décomposition. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz vecteur (inerte). Les différents molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres un certain temps qui fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules [13].

✚ Spectrophotométrie d'absorption UV Visible

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de l'absorption d'un rayonnement électromagnétique monochromatique dans le domaine des rayonnements UV-Visible (entre 200 et 800 nm) par une substance spécifique présentée dans la solution à analyser [10].

❖ Comparaison entre les méthodes d'analyses spécifiques et non spécifiques

Les caractéristiques et les applications de chaque méthode analytique spécifique et non spécifique utilisée sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8: la différence entre les méthodes spécifiques et non-spécifiques [13].

Méthode d'analyse	Caractéristiques				Application	
	Sensibilité	Spécificité	Simplicité	Coût	Résidus chimiques	Agents de nettoyage
Caractères Organoleptiques	+	+	+++	+	Oui	Oui
Conductivité	++	+	+++	++	Non	Oui
Dosage Acido-basique	++	+	++	++	non	Oui
Perte à la dessiccation	++	+	++	+	Oui	Oui
COT	+++	-	++	+++	Oui	Non
Spectrophotométrie UV-Visible	+++	++	+++	++	Oui	Non
CCM	++	+++	++	++	Oui	Non
HPLC	+++	+++	+	+++	Oui	Non
CPG	+++	+++	+	+++	oui	Oui

+:Faible, ++:Moyen, +++:Elevé

❖ **Avantages et inconvénients des méthodes analytiques**

Toutes les méthodes analytiques, spécifiques ou non spécifiques, présentent des avantages et des inconvénients à prendre en considération. Le tableau 9 résume les avantages et inconvénients de chaque méthode d'analyse.

Tableau 9: les avantages et les inconvénients des méthodes analytiques.

Méthode d'analyse	Avantages	Inconvénients
Caractères organoleptiques	Simple Résultat immédiat Non invasif Pas de préparation d'échantillon	Qualitatif, non spécifique
Conductivité	Rapide, peut être adapté à la surveillance en ligne	Non spécifique
Dosage acido-basique	une quantification précise, un seuil de détection satisfaisant.	Non spécifique
Perte à la dessiccation	Spectre large, simple et peu coûteux	Non spécifique
COT	Applicable aux produits organiques et hydrosolubles, haute sensibilité	Non spécifique, appareillage et réactifs étalon très coûteux
Spectrophotométrie UV-Visible	Plus sensible	Peu spécifique
CCM	Spécifique, peu coûteux	Sensibilité insuffisante dans certains cas.
HPLC	Spécifique, suffisamment sensible et spécifique quantification précise	Appareillage et personnel qualifiés nécessaires Méthode plus coûteuse
CPG	Spécifique suffisamment sensible et spécifique quantification précise	Appareillage et personnel qualifiés nécessaires Méthode plus coûteuse

B. Méthodes d'analyses des contaminants microbiologiques

Au cours de la validation de nettoyage, la méthode d'analyse microbiologique choisie doit répondre aux exigences suivantes [08]:

- Délai de réponse court.
- Seuil de détection bas.
- Détection qualitative des microorganismes faiblement représentés dans l'échantillon à analyser.

La Pharmacopée Européenne décrit plusieurs techniques de référence pour le dénombrement de germes : la filtration sur membrane, le dénombrement sur plaque et la méthode du nombre le plus probable. Le choix de la méthode doit se faire en fonction de la nature du produit et de la limite microbienne spécifiée. Pour chaque analyse, il faut s'assurer que la méthode choisie est adaptée et que la prise d'échantillon est suffisante pour permettre l'évaluation de la conformité aux spécifications.

❖ Méthode de filtration sur membrane

C'est la méthode recommandée en première intention par la pharmacopée. Le principe de cette méthode est de concentrer les microorganismes potentiellement présents dans un produit filtrable sur une membrane qui sera mise en contact avec un milieu nutritif approprié permettant ainsi la croissance microbienne en colonie visible à l'œil nu.

Le produit liquide est filtré sur une membrane de porosité de 0,45 µm. Une attention toute particulière doit être apportée au matériau constituant la membrane. En effet, le produit à examiner ou l'un de ses constituants ne doit pas modifier l'efficacité de la rétention bactérienne.

La membrane est ensuite mise en contact avec un milieu nutritif approprié au développement des bactéries. La boîte de milieu gélosé est incubée à 30-35°C pendant 5 jours (minimum). Le nombre d'UFC est ensuite compté à la surface de chaque boîte. Le résultat s'exprime en UFC/ml ou UFC/g [14].

❖ Méthode de dénombrement sur plaque

Deux techniques sont possibles pour la réalisation de cette méthode, soit par ensemencement en profondeur, soit par étalement en surface :

✚ Dénombrement par ensemencement en profondeur

Cette méthode est appropriée pour les produits non filtrables ou non solubles. L'échantillon, de 1 ml pur ou dilué est déposé dans une boîte de Pétri vide puis mélangé à un milieu gélosé liquéfié adapté à la culture des bactéries.

Deux boîtes de Pétri par milieu et par dilution doivent être préparées. Les boîtes sont incubées 5 jours à 30-35 °C. Le dénombrement s'effectue sur les boîtes présentant le plus grand nombre de colonies inférieur à 300. La moyenne arithmétique des dénombrements permet le calcul du nombre d'unités formant colonie par gramme ou par millilitre [14].

✚ Dénombrement par étalement en surface

L'échantillon de 100 µl est étalé à la surface de boîtes de Pétri à milieux gélosés appropriés à la culture des bactéries. Tout comme dans le cas de l'ensemencement en profondeur, deux boîtes de Pétri par milieu et par dilution sont préparées. De même, les conditions d'incubation et les calculs sont effectués comme précédemment. Cette méthode permet également de dénombrer des germes dans des produits non filtrables [14].

II.7.1.6 Validation des méthodes analytiques

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

La démarche de validation passe en pratique par la mise en place d'un certain nombre de critères dits 'critères de validation' sont les suivants :

A. Spécificité : « La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants potentiellement présents »[06].

La spécialité de la méthode analytique vis-à-vis du traceur doit être validée en prenant en compte [03]:

- Les autres produits entrant dans la composition du produit fini ;
- Les autres produits passant sur le même équipement ;
- Les produits de dégradation ;
- Le ou les solvants utilisés ;
- Le détergent ;
- Le support d'essuyage (SWAB, ect) ;
- Le support à prélever.

B. Linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité (exemple : concentration) en analyte dans l'échantillon [06].

C. Exactitude

Elle exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée, et la valeur trouvée (valeur moyenne) obtenue en appliquant la procédure d'analyse plusieurs fois.

Dans le cadre de la validation de nettoyage, l'exactitude est assimilée à la mesure du taux de recouvrement : elle mesure l'écart entre la valeur vraie, c'est-à-dire la quantité de traceur effectivement déposée sur la surface, et la valeur trouvée (la quantité récupérée). On tolère un taux de recouvrement supérieur à 70 % [03].

D. Fidélité

La fidélité de la procédure représente la qualité de l'accord entre des mesures répétées effectuées sur un même échantillon dans des conditions constantes et déterminées. La fidélité rend compte de la variabilité des résultats effectués sur des produits identiques et dans des conditions présumées identiques. Cette variabilité peut provenir de différents facteurs comme : l'opérateur, matériel utilisé, l'environnement (température, humidité ...) et les réactifs utilisés.

La fidélité varie entre deux valeurs extrêmes : Une minimale ou répétabilité : un seul opérateur va refaire n fois la même détermination dans des conditions de répétabilité (même matériel, même condition, même jour), L'autre maximale ou reproductibilité : plusieurs

opérateurs refont la même détermination dans des conditions de reproductibilité (opérateur différent et/ou matériel différent et/ou jour d'analyse différent...)[03].

E. Sensibilité

Il s'agit de la capacité d'une méthode à enregistrer des faibles variations de la concentration [03].

F. Seuil de détection et de quantification

Le seuil de détection est la plus petite quantité d'une substance que l'on peut détecter sans pouvoir la quantifier. De même, le seuil de quantification est la plus petite quantité d'une substance que l'on peut quantifier. La détermination de ce paramètre est faite selon le protocole suivant :

On effectue n mesures indépendantes sur des échantillons contenant l'ensemble des constituants. L'amplitude maximale du bruit de fond, notée h , est mesurée sur un intervalle d'environ 20 fois la largeur du pic principal à mi- hauteur. H représente la hauteur du pic. Le rapport signal/bruit (S/B) est déterminé par la formule suivante :

$$\frac{S}{B} = 2 \frac{h}{H}$$

En fonction du rapport S/B obtenu lors de la première analyse, des dilutions de l'échantillon sont préparées et analysées jusqu'à obtenir des valeurs de :

- S/B = 3, correspondant au seuil de détection.
- S/B = 10, correspondant au seuil de quantification.

Dans le cadre de la validation de nettoyage, les limites de détection et de quantification doivent être déterminées sur le traceur, le seuil de quantification devra être inférieur au critère d'acceptation affecté du taux de recouvrement. Si tel n'est pas le cas, la méthode analytique devra être optimisée [03].

G. Robustesse

L'étude de la robustesse permet de définir les variations admissibles de chacun des paramètres opératoires qui sont susceptibles de modifier le résultat de l'analyse (ex pH, débit, conditions d'extraction.....) On applique la procédure d'analyse en faisant varier les paramètres retenus, pour diminuer le nombre d'essais à réaliser on utilise un plan d'expérience [03].

II .8. Validation du nettoyage des équipements de fabrication pharmaceutique : Nouvelle approche basée sur le risque santé et la détermination de l'Exposition Journalière Admissible – PDE (Permitted Daily Exposure)

Dans sa récente version, le guide des bonnes pratiques de fabrication européennes ainsi que l'annexe15 En matière de validation du nettoyage, l'approche pire cas stipule :

«Les limites de contamination résiduelle du produit doivent reposer sur une évaluation toxicologique. La justification des limites sélectionnées doit être documentée dans le cadre d'une évaluation du risque incluant toutes les données support.» « En cas d'utilisation d'une approche par le pire cas comme modèle de validation du nettoyage, une justification scientifique doit être fournie pour la sélection du pire cas, et l'incidence des nouveaux produits sur le site doit être évaluée. Les critères pour définir le pire cas doivent inclure la solubilité, la nettoyabilité, la toxicité et l'activité thérapeutique » [01 ,32].

Le 20 Novembre 2014, l'agence Européenne des Médicaments (EMA : European Medicines Agency) a publié une ligne directrice intitulée« Ligne directrice pour l'établissement et la définition des limites d'exposition à utiliser pour l'identification des risques sanitaires dans la fabrication de différents médicaments dans des installations communes» cette dernière place la sécurité du patient au centre de cette approche en intégrant l'ensemble des données pharmacologiques et toxicologiques issues des différentes phases des études précliniques et cliniques de développement du médicament [33].

Elle est utilisée pour les substances hautement dangereuses.

I.8.1. Détermination de l'Exposition Journalière Admissible (PDE)

La détermination de la valeur de PDE d'une substance pharmaceutique qui peut être recherchée au cours de la validation du nettoyage implique les étapes suivantes [06] :

- Identification des dangers liés à l'utilisation de la substance en tenant compte de toutes les données disponibles.
- Identification des effets critiques.
- Détermination des valeurs toxicologiques avec ou sans effets néfastes, établies durant les études de sécurité précliniques.
- Utilisation des facteurs d'ajustement qui considèrent l'extrapolation des données obtenues chez les animaux vers les données estimées chez l'être humain en tenant compte de toutes les incertitude.

PROTOCOLLE EXPERIMENTALE

Chapitre 3 : Protocole expérimentale

III.1. Objectif

Cette application est réalisée dans le cadre d'un stage de fin d'étude sur un site de production de la forme liquide au sein de l'entreprise SAIDAL.

Le groupe industriel SAIDAL est une société par action (SPA) au capital social de 2.500.000.000 dinars algériens dont la mission principale est de développer, produire et commercialiser les produits pharmaceutiques à usage humain et vétérinaire. Le groupe SAIDAL est considéré actuellement comme le leader de l'industrie pharmaceutique en Algérie avec une grande part de marché.

Elle dispose de deux ateliers spécialisés dans la production de sirops, et une **unité d'Insuline** : Cette unité est spécialisée dans la production d'insuline humaine à trois types d'action : rapide, lente et intermédiaire.

Ce travail est pour but de démontrer d'une manière scientifique et documenté les différentes étapes qui conduit à la mise en place de la stratégie de la validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique SAIDAL.

III.2. Conditions pré-requises à la validation de nettoyage

III.2.1. Méthode

Avant chaque validation on doit respecter quelques recommandation sert de méthodologie :

- Mettre en place une procédure de nettoyage.
- Mettre en place des méthodes d'analyse afin de valider la méthode de nettoyage.
- Mettre en place une procédure générale de validation.
- Mettre en place un protocole de validation.
- Mise à jour du PDV de nettoyage.

III.2.2. Milieu et équipements

On doit aussi faire la même chose pour le milieu et les équipements de nettoyage :

- Assurer la propreté des locaux concernés.
- Contrôler de l'environnement des locaux.
- Qualifier l'équipement de la station (NEP).
- Qualifier les équipements de production (SCADA).
- Qualifier les équipements du laboratoire.

III.2.3. Main d'œuvre

Le personnel chargé de nettoyage et de production doit être :

- habilité sur le fonctionnement de la station (NEP).
- habilité sur le fonctionnement du (SCADA).
- respecter de l'habillement et l'hygiène du personnel.
- habilité du préleveur à faire les prélèvements des eaux de rinçage.
- habilité des analystes sur les méthodes d'analyse des eaux de rinçage.

III.2.4. matière

- qualification de la boucle d'eau purifiée.
- présence des bulletins d'analyse quotidienne de l'eau purifiée.

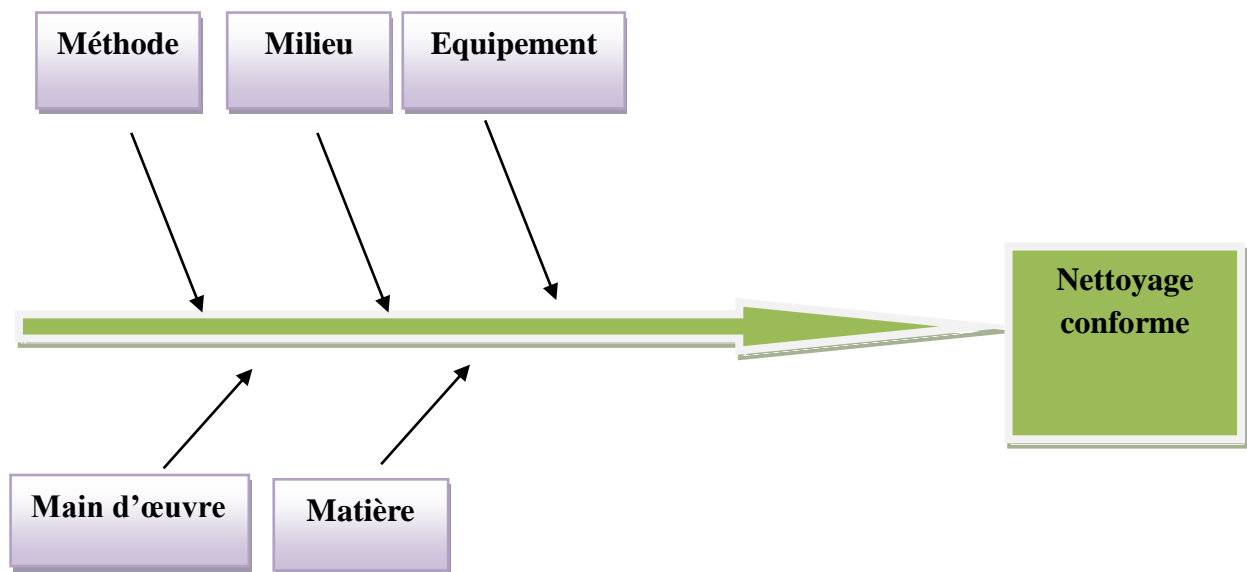


Figure 8: Organigramme des conditions pré-requises avant la validation de nettoyage.

III.3. Description des matériels à nettoyer

La ligne sirop de SAIDAL est composée de deux ateliers

- ✓ Atelier de préparation comprenant les équipements suivants :
 - Une Cuves mobile de 1500 Kg (dans laquelle la matière première est déposée).
 - Une cuve de préparation (de mélange) d'une capacité allant jusqu'à 4000 Kg.
- ✓ Un atelier de conditionnement primaire comprenant les équipements suivants :
 - Deux cuves de stockage d'une capacité de 2000kg pour chacune d'elle.
 - Cuves tampon.
 - Une remplisseuse.

Le produit semi-fini est transféré de la cuve de préparation vers la cuve de stockage puis vers la cuve tampon en fin vers la remplisseuse à l'aide des pompes et des canalisations.

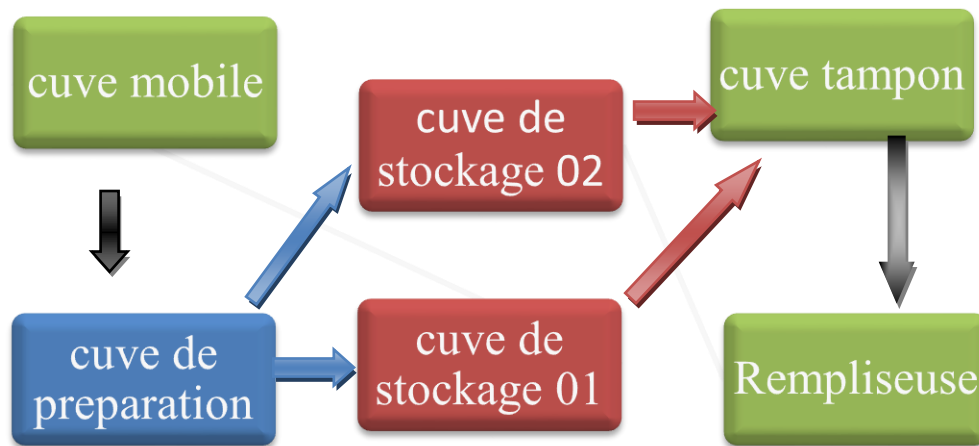


Figure 9 : Schéma de la ligne sirops

Le tableau suivant montre les fonctions et des matériaux des équipements de la ligne de production.

Tableau 10: Les fonctions et le type de matériau de chaque équipement de nettoyage.

Équipement	Matériau	Fonction
Cuve mobile V-X04	Inox 316 L	Préparation de la solution active
Cuve de préparation V-X01	Inox 316 L	Préparation de la solution finale
Cuve de stockage V-X02	Inox 316 L	Stockage produit intermédiaire
Cuve de stockage V-X03	Inox 316 L	Stockage produit intermédiaire
Tuyauterie de recirculation	Inox 316 L	Circulation produit
filtre produit	Inox 316 L	Filtration du produit
Cuve tampon de remplissage	Inox 316 L	Distribution produit
remplisseuse	Inox 316 L	Remplissage des flacons

III.4. Procédure de nettoyage

Le nettoyage utilisé dans l'industrie pharmaceutique SAIDAL est un nettoyage automatique dans lequel un opérateur qualifié lance le NEP après le réglage de différents paramètres. Il se fait en quatre étapes :

- pré-nettoyage
- application du détergent
- rinçage intermédiaire
- rinçage final

III.4.1. Pré-nettoyage

On fait circuler 1500 litres de l'eau adoucie à une température de 80 C° dans toute la ligne de production pendant 10 minutes.

III.4.2. Application du détergent

- On a rempli la cuve mobile avec une quantité d'eau adoucie, ensuite on a ajouté 50ml de détergent et on a lancé une agitation pendant 10 minutes ;
- On a transféré la solution détergente vers la cuve de préparation à travers la ligne de transfert cuve mobile-cuve de préparation ;
- On a rempli la cuve de préparation avec une quantité d'eau adoucie, ensuite a mis 150ml de détergent et on a lancé une agitation pendant 10 minutes ;
- On a circulé la solution détergente à travers le circuit de recirculation de la cuve de préparation pendant 10 minutes ;
- On a ensuite transféré 1500 litres de la solution détergente vers la cuve de stockage 01 et 1500 litres vers la cuve de stockage 2 ;
- On a circulé la solution détergente à travers le circuit de recirculation de la cuve de stockage 01 pendant 10 minutes ;
- On a circulé la solution détergente à travers le circuit de recirculation de la cuve de stockage 02 pendant 10 minutes ;
- On a transféré une quantité de solution détergente vers la cuve tampon ;
- On a lancé une agitation qui a durée 5minutes ;
- On a drainé la solution détergente par le tuyau de transfert vers la remplisseuse, puis à travers les bèques.

III.4.3. Rinçage intermédiaire

On a lancé un rinçage intermédiaire en faisant circuler 1500 litres d'eau adoucie à une température de 80 C° dans toute la ligne de production pendant 10 minutes .

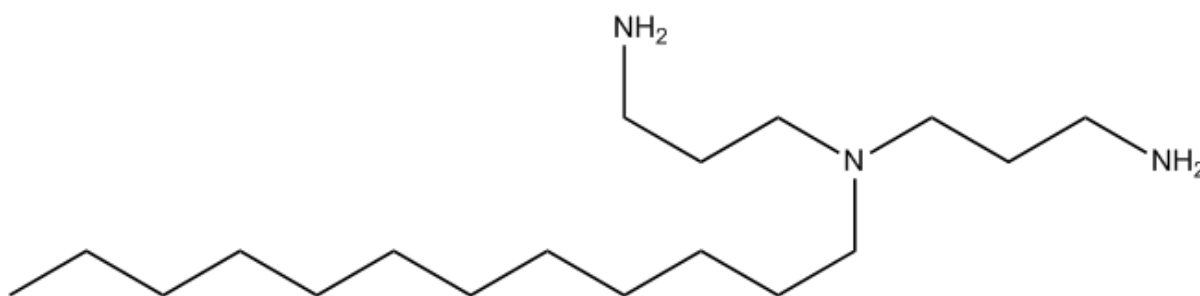
III.4.4. Rinçage final

On arrivant au rinçage final, dans cet étape; 100 litres de l'eau purifiée à température ambiante est circulée dans la ligne de production, sachant que :

- L'étape du rinçage final peut être répéter 2 fois pour tous le circuit.
- Après la fin du nettoyage tous le circuit doit être soufflé jusqu'à disparition de l'eau.

III.5. Le détergent

Le détergent utilisé dans cet établissement est ANIOSTERIL DAC II, c'est un produit certifié qui permet un nettoyage et une désinfection des surfaces des équipements et qui répond aux exigences des détergents.



N-(3-aminopropyl)-*N*-dodécylpropane-1,3-diamine

Figure 10: Structure chimique du détergent ANIOSTERIL DAC II.

III.6. Approche pire cas (Worst Case)

La validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique d'un site multi produit non dédiée nécessite une approche longue, complexe et coûteuse. Afin de diminuer les charges, faciliter les tâches et optimiser le nettoyage l'approche pire cas a été proposée.

Ce concept est basé sur une réflexion préliminaire qui consiste à déterminer un ou plusieurs « pire(s) des cas », puis la validation de nettoyage est effectuée sur ce « pire des

cas». Les BPF stipulent qu'une seule étude de validation peut être réalisée en se fondant sur la méthode du « pire des cas ».

En cas d'utilisation d'une approche par le pire cas comme modèle de validation de nettoyage, une justification scientifique doit être fournie pour la sélection du pire cas, et l'incidence des nouveaux produits sur le site doit être évaluée[32].

Si on prouve que le procédé de nettoyage est suffisamment efficace pour ces produits, alors on considère qu'il l'est également pour tous les autres.

III.6.1. Liste des médicaments fabriqués en site de production de SAIDAL Constantine II

Le site de production de SAIDAL Constantine II fabrique plusieurs produits pharmaceutiques comme montre le tableau suivant :

Tableau 11: médicaments fabriqué dans le site Constantine II SAIDAL.

Nome du produit	Principe actif	Dosage	Forme galénique	Effet thérapeutique
ALLERTINE	Loratadine	0,1 %	Sirop	un antihistaminique antiallergique
SALBUTAMOL	Salbutamol	2mg/ 5ml	Sirop	un bronchodilatateur
KALIGON	Gluconate de potassium	de 15 %	Sirop	Traitement de l'hypokaliémie
HISTAGAN	Dexchlorphéniramine	0,01 %	Sirop	un antihistaminique H1
EUPNEX	Oxéladine	10 mg/ 5 ml	Sirop	Antitussifs non opiacés
HYPTAGIL	Cyproheptadine	0,04%	Sirop	un antihistaminique

- Vu que la forme galénique des produits est la même on passe directement à l'étape de détermination du pire cas.

III.6.2. Critères de déterminations du produit pire cas

Selon annexe 15, les critères pour définir le pire cas doivent inclure la solubilité, la nettoyabilité et la toxicité en se basant sur la dose létale 50 (DL50).

Pour chaque critère, une grille de cotation est construite pour classer les produits selon un score de criticité.

III.6.2.1. Échelle de toxicité (Échelle de Hodge&Sterner)

Les principes actifs sont classés en fonction de leurs toxicités en se basant sur la dose létale qui 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 DL₅₀ est une façon de mesurer le potentiel toxique à court terme (toxicité aiguë) d'une matière.

Tableau 12: Grille de cotation de la toxicité des substances selon l'échelle de Hodge&Sterner.

Termes descriptifs	Cotation	DL50 (oral)
Pratiquement non toxique	1	> 15g/kg
Légèrement toxique	2	= 5-15g/kg
Moyennement toxique	3	= 0,5-5g/kg
Très toxique	4	= 50-500 mg/kg
Extrêmement toxique	5	= 1-50 mg/kg
Super toxique	6	< 1 mg/kg

III.6.2.2. Échelle de solubilité (la solubilité aqueuse)

L'évaluation de la solubilité doit être effectuée sur la base de la solubilité des substances dans les solvants utilisés, pour le nettoyage dans notre cas on a utilisé l'eau.

Selon la pharmacopée européenne 9^{ème} édition la solubilité aqueuse est cotée comme décrit dans le tableau ci-dessous.

Tableau 13: Grille de cotation de la solubilité aqueuse des substances

Termes descriptifs	Cotation	Volumes approximatifs de solvants en ml/g de substance (T° de 15 °C à 25°C)
Très soluble	1	Inférieur à 1
Facilement soluble	2	de 1 à 10
Soluble	3	de 10 à 30
Assez soluble	4	de 30 à 100
Peu soluble	5	de 100 à 1000
Très peu soluble	6	de 1000 à 10 000
Pratiquement insoluble	7	Plus de 10 000

III.6.2.3. Échelle de nettoyabilité

La nettoyabilité pourrait être classée selon les quatre catégories suggérées est cotée comme décrit le tableau suivant (Les résultats sont pris à partir de l'expérience des opérateurs qualifiés):

Tableau 14: Grille de cotation de la nettoyabilité des substances

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

III.7. Plan de prélèvements

Le choix des points de prélèvement pour les analyses physicochimiques et microbiologiques est porté sur les équipements et endroits montré dans le tableau suivant :

Tableau 15: Plan de prélèvements au cours de la validation du nettoyage des équipements de la ligne sirop.

ID	Désignation point	Analyse physico chimique	Analyse microbiologique
01	Cuve mobile	✓	✗
02	Cuve de préparation	✓	✓
03	Ligne de transfert cuve mobile-cuve de préparation	✓	✓
04	Ligne de recirculation cuve de préparation	✓	✓
05	Cuve de stockage avec ligne 01	✓	✗
06	Cuve de stockage avec ligne 02	✓	✗
07	Cuve tampon	✓	✗
08	Transfert vers remplissage	✓	✗
09	Becques de remplisseuse	✓	✓



Figure 11: Les différents points de prélèvements.

III.8. Méthodes analytiques

Afin de d'évaluer l'efficacité de nettoyage des méthodes analytiques sont proposés.

III.8.1. analyse physico-chimique des eaux de rinçage

On peut examiner la qualité physico-chimique des eaux de rinçage en utilisant deux types de méthodes : spécifique et non spécifique

III.8.1.1. Méthodes non spécifique

A. Caractère organoleptique

Une évaluation de l'aspect et la couleur des eaux des rinçages prélevées a été faite à l'œil nu, lorsqu'on trouvera les eaux de rinçage : limpide, sans odeur et sans couleur. Alors, elles obéissent aux critères d'acceptation.

B. Mesure du pH

La mesure de pH se fait après l'étalonnage du pH mètre, pour obtenir les valeurs de pH exactes on doit suivre les étapes suivantes :

- Sortir la sonde de l'eau distillée ;
- Rincer la sonde avec de l'eau distillée essuyer délicatement ;
- Prolonger la sonde dans les eaux de rinçage ;
- Attendre la stabilité de valeur ;
- Enregistrer la valeur de pH

Les valeurs de pH acceptées varient entre 5 et 7.



Figure 12: pH mètre

C. Conductivité

On a mesuré l'activité électrolytique (la conductivité) des eaux de rinçage à l'aide d'un conductimètre étalonné et enregistré simultanément la température.

Par rapport aux spécifications de l'eau purifiée, la valeur de conductivité acceptable doit être inférieure à $4,3 \mu\text{S}$ à 20°C .

D. Substance oxydable

La recherche des substances oxydantes témoigne d'une contamination chimique, elle est liée à la présence de détergents à la suite d'un nettoyage de la ligne.

❖ Préparation des solutions

- ✚ **Acide sulfurique dilue** : on a ajouté 5,5 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 de 95 % à 97 % (m/m) à 60 ml d'eau purifiée, on a laissé le mélange se refroidir et on a rajouté le même solvant jusqu'à 100 ml.
- ✚ **Permanganate de potassium 0,02M** : on a dissout 3,2 g de permanganate de potassium dans de l'eau purifiée et on a complété jusqu'à 1000 ml avec le même solvant. On a chauffé la solution dans un bain marie pendant 1h et finalement on a filtré le mélange en utilisant un verre fritté après le refroidissement.

Les deux solutions ont été conservées dans un flacon de verre ambre à l'abri de la lumière.

❖ Mode opératoire

On a chauffé à ébullition pendant 5 minutes un mélange de 100 ml de l'eau de rinçage, 10 ml d'acide sulfurique dilue et 0,1 ml de permanganate de potassium 0.02. Si la couleur de la solution devient rose, cela justifie l'absence de substances oxydantes.

E. Spectrométrie UV-VISIBLE

A l'aide d'un spectrophotomètre double faisceau, on a effectué un balayage dans le domaine de lecture (200- 1000 nm), dans le but de comparer le spectre d'absorption de l'eau de rinçage avec l'eau pur comme témoin : si les processus du nettoyage est conforme le spectre d'absorption de l'eau de rinçage est normalement identique à l'eau pure.

III.8.2. Méthodes d'analyse microbiologique

La méthode utilisée dans l'industrie pharmaceutique SAIDAL c'est celle de la filtration sur membrane qui est une méthode recommandée en première intention par la pharmacopée européenne

Le principe de cette méthode est de concentrer les microorganismes potentiellement présents dans les eaux de rinçages sur une membrane qui sera mise en contact avec un milieu de culture.

III.8.2.1. Mode opératoire

On a pris chaque flacon des eaux de rinçage prélevé précédemment et on les filtré sous vide sur une membrane de porosité de 0,45 μm comme le dispositif montre dans la figure suivante ;



Figure 13: Rampe de filtration sur membrane.

Ensuite après la récupération la membrane délicatement et on a mis cette dernière dans une boîte de pétrie de milieu de culture R2A

R2A est un milieu de culture développé pour étudier les bactéries qui habitent normalement l'eau potable. Ces bactéries ont la tendance à être des espèces à croissance lente et seraient rapidement supprimées par des espèces à croissance plus rapide sur un milieu de culture plus riche.

La boîte de milieu gélosé est incubée à 30-35°C pendant 5 jours (minimum). Le nombre d'UFC est ensuite compté à la surface de chaque boîte. Le résultat s'exprime en UFC/ml ou UFC/g le pH final de la gélose R2A est $7 \pm 0,2$ à 25 ° C.

III.8.2.2. Critères d'acceptation pour l'analyse microbiologique

Le dénombrement microbien DGAT et DMLT doit être respectivement inférieurs à 20ufc/10 cm² pour les prélèvements par écouvillonnage et inférieur à 100 UFC/ml dans les eaux de rinçage.

Remarque

- Si le nombre de colonie dépasse 100 UFC on considère le résultat hors spécification
- Avant l'utilisation de n'importe quel milieu de culture les tests de stérilités de ses derniers doit avoir lieu

RESULTATS ET DISCUSSION


Chapitre 04 : Résultats et discussions

IV.1. Détermination du produit pire cas « worst-case »

Le produit pire cas a été déterminé en utilisant le tableau récapitulatif ci-dessous :

Tableau 16: Scores et caractéristiques des produits fabriqués

PRINCIPE ACTIF	Toxicité DL 50 (mg/kg) Voie oral	Note de toxicité	Solubilité aqueuse	Note de solubilité aqueuse	Nettoyabilité	Note de Nettoyabilité	Note global
Loratadine	125-200	4	peu soluble	5	Très facile	1	10
salbutamol	1 100 mg / kg	3	Peu soluble dans l'eau	5	Très facile	1	9
Gluconate de potassium	10380 mg/kg	2	Soluble 50 mg /ml	3	Difficile	3	8
Dexchlorphé niramine	188 mg/kg	4	Très soluble dans l'eau	1	Facile	2	9
Oxéladine	183 mg / kg	4	Librement soluble dans l'eau 47,7 [µg/mL]	2	Facile	2	8
cyproheptadine chlorhydrate	123 mg/kg	4	Soluble	3	Facile	4	11

 **Le produit pire cas est (Chlorhydrate cyproheptadine)**

Le chlorhydrate de cyproheptadine est un sel chlorhydrate d'un dérivé synthétique de méthyl-pipéridine aux propriétés antihistaminiques et anti-sérotoninergiques. La cyproheptadine entre en compétition avec l'histamine libre (HA) pour la liaison aux sites des récepteurs HA, antagonisant ainsi de manière compétitive la stimulation par l'histamine des récepteurs HA dans le tractus gastro-intestinal, les gros vaisseaux sanguins et le muscle lisse bronchique. Cet agent entre également en concurrence avec la sérotonine libre pour la liaison aux sites récepteurs de la sérotonine. La cyproheptadine présente des propriétés anticholinergiques et sédatives et il a été démontré qu'elle stimule l'appétit et la prise de poids.

La structure de Chlorhydrate Cyproheptadine a été obtenue en utilisant le programme ChemBioOffice.

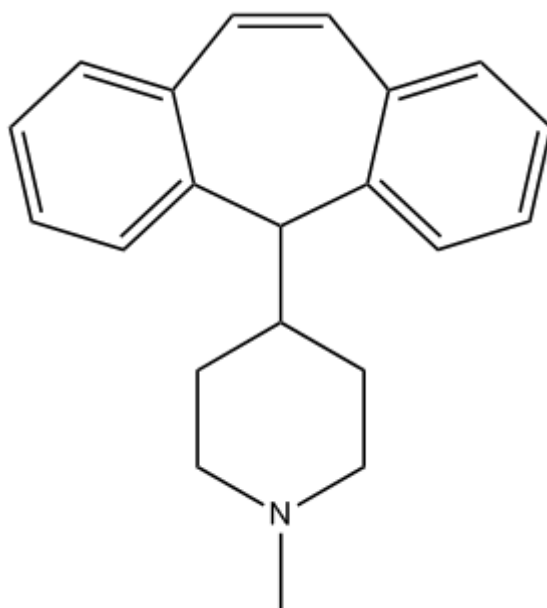


Figure 14: Structure chimique de chlorhydrate cyproheptadine

IV.2. Les analyses physicochimiques

IV.2.1. Caractères organoleptiques

Le tableau ci-dessous rassemble les caractères organoleptiques obtenus lors des testes sensoriales :

Tableau 17: résultat du critère organoleptique des eaux de rinçages.

Point de prélèvement	Norme	Résultats
Cuve mobile		Conforme
Cuve de préparation		Conforme
Ligne de transfert cuve mobile-cuve de préparation		Conforme
Ligne de recirculation cuve de préparation		Conforme
Cuve de stockage avec ligne 01		Conforme
Cuve de stockage avec ligne 02		Conforme
Cuve tampon		Conforme
Transfert vers remplissage		Conforme
Bèque 01	Liquide limpide et incolore	Conforme
Bèque 02		Conforme
Bèque 03		Conforme
Bèque 04		Conforme
Bèque 05		Conforme
Bèque 06		Conforme
Bèque 07		Conforme
Bèque 08		Conforme
Bèque 09		Conforme
Bèque 10		Conforme
Bèque 11		Conforme
Bèque 12		Conforme



Figure 15: aspect de quelque échantillon des eaux de rinçage.

L'inspection visuelle de la ligne après le nettoyage a montré l'absence des traces visibles sur les surfaces des équipements (figure 14).

L'aspect des prélèvements (eaux de rinçages) est sans anomalies particulières.

IV.2.2. Mesure de pH

Les valeurs de pH des eaux de rinçage pour chaque composante sont mesurées à l'aide d'un pH-mètre et récapitulées dans le tableau 18.

Tableau 18: résultat du pH des eaux de rinçages.

Point de prélèvement	Norme	Résultats
Cuve mobile	5 à 7	6.3
Cuve de préparation		6.9
Ligne de transfert cuve mobile-cuve de préparation		6.2
Ligne de recirculation cuve de préparation		5.9
Cuve de stockage avec ligne 01		6.1
Cuve de stockage avec ligne 02		6.3
Cuve tampon		5.8
Transfert vers remplissage		6.2
Bèque 01		7.00
Bèque 02		6.90
Bèque 03		7.01
Bèque 04		7.00
Bèque 05	6.80	
Bèque 06	7.02	
Bèque 07	7.04	
Bèque 08	7.00	
Bèque 09	6.85	
Bèque 10	7.03	
Bèque 11	6.93	
Bèque 12	7.05	

Les résultats de pH obtenus montrent que les valeurs pH pour tous les prélèvements effectués sont comprises entre 5 et 7, donc elles sont dans l'intervalle d'acceptation en comparant au pH des eaux purifiées.

IV.2.3. Mesure de conductivité

Les valeurs de conductivité des eaux de rinçage sont mesurées en utilisant un conductimètre étalonné, elles sont enregistrées dans le tableau suivant :

Tableau 19 : les résultats de la conductivité des eaux de rinçages

Point de prélèvement	Norme	Résultats
Cuve mobile		0.7 à 19.4
Cuve de préparation		1.0 à 19.3 C°
Ligne de transfert cuve mobile-cuve de préparation		0.8 à 19.2 C°
Ligne de recirculation cuve de préparation		0.8 à 19.2 C°
Cuve de stockage avec ligne 01		0.6 à 20.1 C°
Cuve de stockage avec ligne 02		1.00 à 19.8 C°
Cuve tampon		0.9 à 20.1 C°
Transfert vers remplissage		0.7 à 19.4
Bèque 01		3.6 à 20.06
Bèque 02	<4.3 µs/cm	3.5 à 21.01
Bèque 03		3.4 à 21.04
Bèque 04		3.3 à 21.02
Bèque 05		3.5 à 21.03
Bèque 06		3.4 à 21.01
Bèque 07		3.6 à 21.02
Bèque 08		3.8 à 21.05
Bèque 09		3.7 à 21.01
Bèque 10		3.1 à 21.03
Bèque 11		3.6 à 21.04
Bèque 12		3.4 à 21.01

Les résultats obtenue sont inférieure à 4,3 $\mu\text{s}/\text{cm}$ à 20 °C donc ils sont conformes aux normes de la pharmacopée européenne.

IV.2.4. les substances oxydables

Après le chauffage à ébullition pendant 5 minutes un mélange de l'eau de rinçage, l'acide sulfurique dilue et le permanganate de potassium, avec des quantités bien précises. On a dessiné le tableau ci-dessous selon le changement de couleur de mélange :

Tableau 20: Résultats de la recherche des substances oxydantes dans les eaux de rinçages.

Point de prélèvement	Norme	Résultats
Cuve mobile	Solution légèrement rosée	Conforme
Cuve de préparation		Conforme
Ligne de transfert cuve mobile-cuve de préparation		Conforme
Ligne de recirculation cuve de préparation		Conforme
Cuve de stockage avec ligne 01		Conforme
Cuve de stockage avec ligne 02		Conforme
Cuve tampon		Conforme
Transfert vers remplissage		Conforme
Bèque 01		Conforme
Bèque 02		Conforme
Bèque 03		Conforme
Bèque 04		Conforme
Bèque 05	Conforme	
Bèque 06	Conforme	
Bèque 07	Conforme	
Bèque 08	Conforme	
Bèque 09	Conforme	
Bèque 10	Conforme	
Bèque 11	Conforme	
Bèque 12	Conforme	



Figure 16: Résultats de la recherche des substances oxydables.

Les mélanges obtenus sont homogènes et légèrement rose ce qui prouve l'absence des résidus organiques (substances oxydantes).

IV.2.5. spectre UV visible

Après analysé les eaux de rinçage prélevé de chaque équipement par spectrophotométrie d'absorption (UV-visible), les absorptions sont enregistrées dans le tableau 21.

Tableau 21: Résultats du balayage de spectre UV visible.

	Point de prélèvement	Norme	Résultats
Traces de Cyproheotadine chlorhydrate $\alpha = 285 \text{ nm}$	Cuve mobile		0.00
	Cuve de préparation		0.00
	Ligne de transfert cuve mobile-cuve de préparation		0.00
	Ligne de recirculation cuve de préparation		0.00
	Cuve de stockage avec ligne 01		0.00
	Cuve de stockage avec ligne 02		0.00
	Cuve tampon		0.00
	Transfert vers remplissage		0.00
	Bèque 01	Absence de traces	0.048
	Bèque 02		0.051
	Bèque 03		0.066
	Bèque 04		0.063
	Bèque 05		0.070
	Bèque 06		0.068
	Bèque 07		0.064
	Bèque 08		0.055
Bèque 09	0.050		
Bèque 10	0.045		
Bèque 11	0.057		
Bèque 12	0.050		

Les résultats montrent l'absence de traces de médicament produit précédemment (Cyproheptadine chlorhydrate) dans les différents équipements dans la ligne de la production.

IV.3. Résultats des analyses microbiologiques

IV.3.1. Recherche des microorganismes dans les eaux de rinçages.

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.

Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 16 et le tableau 22.

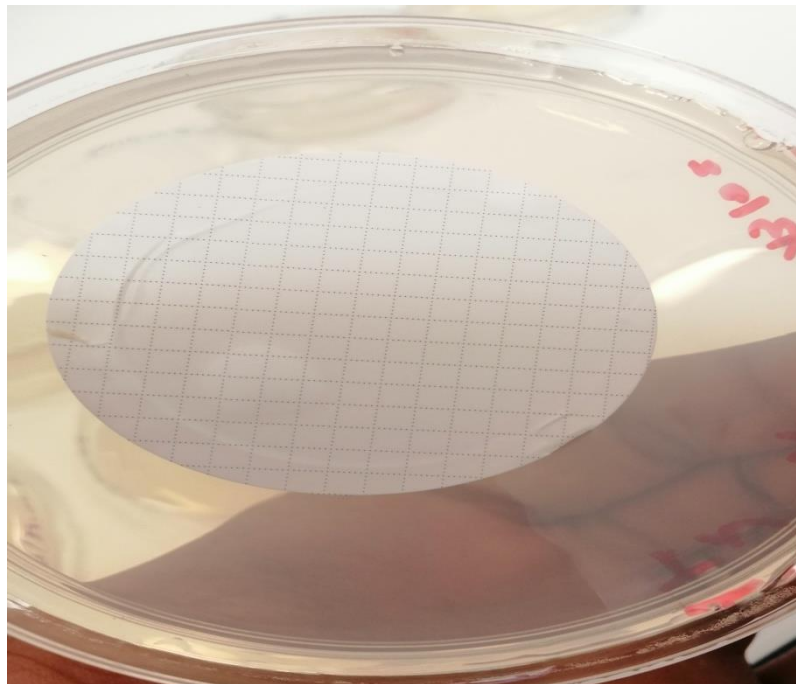


Figure 17: Dénombrement des microorganismes viables dans les eaux de rinçage par méthode de filtration sur membrane.

Tableau 22: résultats du dénombrement des microorganismes viables dans les eaux de rinçage par méthode de filtration sur membrane

Paramètre	Point de prélèvement	Norme	Résultat
Recherche des bactéries aérobies viables totales (UFC/ml)	Ligne de transfert cuve mobile-cuve de préparation	< 100	76
	Cuve de préparation		84
	Ligne de recirculation cuve de préparation		80
	Bèque 01		14
	Bèque		36
	Bèque		24
	Bèque		46
	Bèque		82
	Bèque		07
	Bèque		38
	Bèque		85
	Bèque		26
	Bèque		90
	Bèque		86
Bèque		81	

Les résultats obtenus de la filtration sur membrane de l'eau rinçage après lecture à l'aide d'un compteur de colonies, le nombre de colonies est inférieur à 100 UFC/ml. Donc, la qualité microbiologique des eaux de rinçages prélevées dans tous les points sont conforme. Donc le nettoyage des équipements de fabrication des sirops est valide de point de vue microbiologique.

**CONCLUSION
GENERALE ET
PERSPECTIVES**

Conclusion

L'industrie pharmaceutique compte beaucoup sur la qualité des produits fabriqués et la sécurité de la santé des patients utilisateurs, la propreté des équipements de production est un critère clef qui permet d'obtenir un produit de haute qualité, ce critère ne peut se faire qu'avec un nettoyage approprié.

Comme toute autre opération pharmaceutique, l'opération de nettoyage nécessite une validation ; une exigence réglementaire proposée par les différents organismes a poussé les industries pharmaceutiques à optimiser des nouvelles procédures de nettoyage.

Une bonne validation de nettoyage est basée sur ce qui est suivant :

- Une définition d'une politique globale de validation en identifiant les équipements à valider.
- Une revue précise et minutieuse des conditions pré requises (qualification du matériel, procédure de nettoyage et formation du personnel, validation des méthodes analytiques,...).
- L'élaboration de la stratégie basée sur le groupage et les pires des cas.

La stratégie des pires des cas proposé par les industriels a pour but de simplifier la validation et pour avoir de bon résultat en maîtrisant les point critiques et contamination croisé

La nouveauté correspond à l'application de l'approche PDE conformément à la ligne directrice de l'EMA ainsi que la récente version du guide des BPF. Ceci correspond parfaitement aux nouvelles recommandations et exigences de qualité régissant la validation du nettoyage.

A l'issue de ce travail, nous concluons que validation de nettoyage nécessite une rédaction d'un guide international par des experts qui fixe les différentes normes à prendre en considération afin de tout maîtriser dans la validation de, vu son importance dans l'industrie pharmaceutique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- 1) Guide des bonnes pratiques de fabrication. Agence Nationale de Sécurité de Sécurité des Médicaments et des Produits de santé. mai 2019.
- 2) L. CHLOE, Analyse de risques appliquée à la validation du nettoyage des équipements de fabrication de médicaments aérosols. Université de ROUAN. 2014.
- 3) R. BOUBEKER,K.BOUAGGAR, Validation de nettoyage d'une centrale de pesée : Cas d'un site multi produits. Université Mammeri Mouloud. 2016/2017.
- 4) J.BAILLY, stratégie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique. Université Claude Bernard Lyon 1. 2004.
- 5) Norme AFNOR X50-109. Management de projet - Recommandations pour l'analyse et la modélisation graphique d'actions et son utilisation pour une meilleure communication entre les acteurs d'un projet - Aitiographie. Déc 1991.
- 6) Dr M.MAMOU, de validation de nettoyage en industrie pharmaceutique : nouvelles recommandations et application aux équipements de fabrication dans un site multi produit Université Mouloud MAMMERI de TiziOuzou.2018.
- 7) A.BARICAULT, Validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : cas pratique d'un projet de changement d'agent de nettoyage UNIVERSITE BORDEAUX 2. 2014.
- 8) L.LAFTINE, validation de nettoyage des équipements de production dans l'industrie pharmaceutique. UNIVERSITE MOHAMMED V RABAT année. 2010.
- 9) Pharmacopée européenne 9 eme Edition
- 10) S.AZZOUZ, contrôle qualité des produits pharmaceutique, cours bio industrie, analyse et contrôle première année master 2019/2020
- 11) C.BOLZAN, la validation de nettoyage en industrie pharmaceutique : validation des prérequis, principe et application au cas particulier d'une centrale de pesées. université Henri Poincaré - Nancy 1. 2008.
- 12) K.HAMOUN, Validation d'un procédé de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique. Université AKLI MOHANED OULHADJ-BOUIRA. 2018.
- 13) W.GHERBOUDJ, méthodes de séparation cours bio industrie, analyse et contrôle première année master 2018/2019
- 14) L. TORDJMAN-VALENCY, Défi du dénombrement microbien dans l'industrie pharmaceutique: les nouvelles méthodes alternatives sont-elles appliquées ? université GRENOBLE ALPES France. 2016

Références bibliographiques

- 15) Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication. Agence Nationale de Sécurité de Sécurité des Médicaments et des Produits de santé.2003.
- 16) Guide des normes iso
- 17) documents d'orientation officiels de la FDA
- 18) Guide orange (1983),
- 19) Guide de (GooGManufacturing Practice)
- 20) M.UAKASS,les approches de validation de procédé de fabrication et leurs applications sur les formes sèches orales. université MOHAMMED V-RABAT. 2016
- 21) MOURNA Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie validation de nettoyage des équipements de production des formes pâteuses. université MOHAMMED V-RABAT. 2010
- 22) <https://www.drugbank.com/> 2020
- 23) BENACHOUR, Validation des procédés de nettoyage des équipements de production de forme injectable dans l'industrie pharmaceutique GEO-PHARM laboratoires, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella. 2019.
- 24) ChemBioOffice. PerkinElmer Informatics. 2010.
- 25) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.2020
- 26) annexe 15 de la pharmacopée européenne
- 27) EuropeenMedecines Agency, Guideline on setting healthbasedexposurelimits for use in risk identification in the manufacture of differentmedicinalproducts in sharedfacilities. United Kingdom . 20 Nov 2014;
- 28) STP pharma pratique.2020

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Des définitions

Annexe 2: Le milieu gélosé R2A

Annexe 3: Le milieu gélosé TSA

Annexe 4: Fiche technique de l'ANIOSTERIL DAC II

Annexe 1 : des définitions

L'eau pure

Est de l'eau douce ne contenant que la molécule H₂O et aucun autre élément chimique. Elle est exempte de toute autre substance chimique tels que des matières dissoutes (impuretés), sels, minéraux...

Eau purifiée vrac

L'eau purifiée vrac doit être préparée à partir d'une source d'eau au moins de qualité potable. Elle doit répondre aux spécifications en vigueur de la pharmacopée applicable en termes de pureté chimique et microbiologique comprenant des limites d'alerte et d'action appropriées. Elle doit aussi être protégée des contaminations et de la prolifération microbienne. L'eau purifiée vrac peut être préparée par une combinaison d'osmose inverse (RO), d'électro-déionisation (EDI) et de thermo compression de vapeur (VC). Les niveaux d'alerte applicables aux systèmes d'eau doivent être déterminés à partir de la connaissance de ces systèmes puisqu'ils ne sont pas spécifiés par les Pharmacopées.

SCADA : Supervisory Control and Data Acquisition

Une fondation de l'excellence opérationnelle

SCADA n'est pas une technologie spécifique, mais un type d'application. SCADA signifie Supervisory Control and Data Acquisition (système de supervision industrielle qui traite en temps réel un grand nombre de mesures et contrôle à distance les installations). Toute application qui reçoit les données de fonctionnement d'un système pour contrôler et optimiser ce dernier est une application SCADA. Cette application peut être un processus de distillation pétrochimique, un système de filtration d'eau, un compresseur sur un pipeline ou toute autre chose.

SCADA automation est tout simplement les moyens à une fin et non une fin en soi. A la fin de la journée, toutes les activités convergent vers la nécessité de maximiser l'utilisation des équipements au travers de l'excellence opérationnelle. Rester compétitif signifie de trouver sans cesse de nouvelles façons de travailler plus vite et plus efficacement et d'une manière plus économique. La pression est toujours – pour augmenter la productivité, l'efficacité, l'agilité, la qualité et la rentabilité tout en minimisant les coûts.

Annexe 2 : 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

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Protéose peptone N° 3	0,50	Pyruvate de sodium	0,30
Extrait de levure	0,50	Phosphate de potassium dibasique	0,30
Hydrolysate acide de caséine	0,50	Sulfate de magnésium, 7H ₂ O	0,05
Glucose	0,50	Agar	15,00
Amidon soluble	0,50		

pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2

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.

PREPARATION

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 3 : Le milieu gélosé TSA

PRINCIPE

La gélose Tryptone-Soja (TSA) est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de micro-organismes. Il peut être additionné de 5 à 7% de sang pour déterminer les réactions hémolytiques.

FORMULE

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone de caséine	15,00
Peptone de soja	5,00
Chlorure de sodium	5,00
Agar	15,00
pH final à 25°C : 7,30±0,2	

CONSERVATION

Boîtes : 2 - 8°C

Tubes ou flacons : 2 - 25°C

Milieu déshydraté : 2 - 30°C

La date d'expiration est indiquée sur l'emballage

PREPARATION

Pour le milieu déshydraté

1. Dissoudre 40 grammes dans 1 litre d'eau pure.
2. Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.
3. Répartir en tubes ou flacons.
4. Autoclaver 15 minutes à 121°C.

Pour le milieu en flacons:

1. Liquéfier le milieu à 100°C au bain-marie.
2. Bien mélanger, laisser refroidir à 45-47°C. Ajouter aseptiquement la ou les solutions stériles nécessaires à l'analyse. Bien homogénéiser.
3. Répartir immédiatement en boîtes de Pétri et laisser solidifier sur une surface froide.

EQUIVALENCE

Ce milieu est conforme à la formulation du Milieu gélosé B (Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja) de la Pharmacopée Européenne.


Annexe 4 : Fiche technique de l'ANIOSTERIL DAC II

TRAITEMENT/APPLICATION DYNAMIQUE

ANIOSTERIL DAC II

DETERGENT DESINFECTANT DE CONTACT
POUR SURFACES ET CIRCUITS

CARACTERISTIQUES	DONNEES PHYSICO-CHIMIQUES
Utilisable en machine à laver automatique. Conforme aux produits de nettoyage du matériel pouvant se trouver au contact des denrées alimentaires (Arrêté du 8 septembre 1999). Produit non agressif vis-à-vis des matériaux.	<ul style="list-style-type: none">• Solution limpide incolore• Densité à +20°C : env. 1,13• pH du produit pur : > 12• pH à dilution (2%) : env. 11,5

 Laboratoires
ANIOS
Le professionnel de la désinfection

REFERENCE
1471EX-2008.10-A

ANIOSTERIL DAC II

PROPRIETES MICROBIOLOGIQUES

BACTERICIDE : EN 1040, EN 1276.

COMPOSITION QUALITATIVE

N-(3-aminopropyl)-N-dodécylpropane-1,3-diamine (1,2%), tensioactif non ionique, agent alcalin et agents séquestrants.

PROPRIETES TECHNOLOGIQUES

Stabilité jusqu'à 80°C.
Produit non corrosif vis-à-vis des matériaux.
Produit dosable (différentes méthodes disponibles sur demande).

MODE D'EMPLOI

Solution concentrée pour usage professionnel.
A utiliser en circuit ou machine à laver automatique à la dilution de 1%.
Temps de contact minimum de 5 minutes.
Rincer à l'eau potable après chaque utilisation.

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

Dangereux - respectez les précautions d'emploi (Établies selon la Directive 99/45/CE et ses adaptations).
Stockage entre +5°C et +35°C

CONDITIONNEMENTS

Bidon de 25 kg : 1471.018

Fût de 200 kg : 1471.005

Container de 1000 kg : 1471.004



Laboratoires Pavé du Moulin
59260 Lille-Hellemmes - France
ANIOS Tél. +33 3 20 67 67 67 - Fax : +33 3 20 67 67 68
Le professionnel de la désinfection www.anios.com

NOÏOCLEAN
Quality Partner

194, Rue Boujemaa Kheïll Oued Romane
Tél. : +213 21 30 81 63 à 66
Fax : +213 21 30 83 66
www.noïoclean.com

Résumé

Résumé

RESUME

Dans ce travail de mémoire de fin d'étude en bio industrie analyse et contrôles nous avons proposé une stratégie de validation de nettoyage d'une ligne de production en sein d'une firme pharmaceutique SAIDAL

Ce travail est une initiation à la recherche de ce domaine vu que la validation de nettoyage est devenue une exigence règlementaire, on a abordé les l'ancien approche utilisé et aussi on a parlé des nouvelles recommandations des BPF.

Les résultats de ce travail effectué dans SAIDAL montrent l'efficacité des méthodes de nettoyage utilisées, du point de vue physico chimique et microbiologique, mais il faut prendre en considération les nouvelles exigences et recommandations des différentes organisations mondiales.

Mots clés : validation, stratégie de validation, validation de nettoyage, nouvelle exigences ; anciens approche.

ABSTRACT

In this end of study thesis in bio-industry analysis and controls, we proposed a validation strategy for cleaning a production line within a pharmaceutical firm SAIDAL

This work is an initiation into research in this area as cleaning validation has become a regulatory requirement, we discussed the old approach used and also we talked about the new BPF recommendations.

The results of this work carried out in SAIDAL show the effectiveness of the cleaning methods used, from a physicochemical and microbiological point of view, but it is necessary to take into account the new requirements and recommendations of the various world organizations.

key Words : validation, validation strategy, cleaning validation, new requirements, old approach

ملخص

لتحقق من عملة التنظيف في صنع صيدال في أطروحة الماجستير هذه تخصص صناعة حيوية قمنا باقتراح استراتيجيات

Résumé

يعتبر هذا العمل بداية البحث في هذا المجال نظرا لأنها أصبحت مطلبا تنظيميا لقد تحدثنا عن الطرق القديمة المستعملة بالإضافة الى اخر التوصيات المقترحة

النتائج المتحصل عليها كانت مرضية ولكن يجب الأخذ بعين الاعتبار التوصيات الجديدة من مختلف المنظمات العالمية

الكلمات المفتاحية : التحقق من الصحة. إستراتيجية التحقق من الصحة. التحقق من التنظيف. المتطلبات الجديدة. النهج القديم