

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE 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: Bio-industrie, Analyse et Contrôle**

**Par : BAAZIZ Ahmed Chaouki**  
**BOULAKZAZ Abdellah**

## Thème

**Validation d'un Procédé de nettoyage physico-chimique et microbiologique d'une cuve de mélange ' forme liquide '.**

**Jury d'évaluation :**

**Président de jury: Mr. KACEM CHAOUCHE N**  
**Rapporteur : Mr. ADJEROUD MOUSSA.**  
**Examineur: Mme. BENCHIHEUB M.**  
**Maitre de stage : Mme. BENHAZIL I.**

**Prof. Univ. Constantine 1.**  
**MAA .Univ. Constantine 1**  
**MCB Univ. Constantine 1.**  
**BIOGALENIC production.**

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017-2018**

## **Remerciement**

**Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.**

**En second lieu, nous tenons à remercier notre chef de Département Le Pr : (KACEM CHAUCHE) pour ses efforts visant à assurer la continuité et le succès de ce programme de master.**

**Nous remercions notre encadreur Mr. AJEROUD Moussa pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être accompli.**

**Nous remercions sincèrement Mme BOULOUHA Samira, directrice du laboratoire et notre superviseur, pour ses conseils judicieux, son aide inestimable et son soutien indéfectible. Sans oublier Mme YAHYAOUI Fériél qui nous a beaucoup aidés.**

**Nous adressons un grand merci à l'ensemble des personnels de l'unité, et à sa tête Mme BENHZIL, Mr Wail, Mr Abd El Rahman, et Mr Mohamed pour l'excellent accueil, les précieux conseils avisés et ses aides durant toute la période du travail.**

**Nous aimerions également remercier toutes les personnes que nous avons côtoyées au cours de ce stage : les techniciens du laboratoire, les agents de nettoyage, et autres travailleurs d'usine, d'avoir pris le temps de me transmettre leur savoir et qui ont tous à leur manière participé au bon déroulement de mon stage.**

**Nous offrons également des remerciements spéciaux pour le Pr. HAMIDCHI Abd El Hafid et tous les enseignants qui ont participé à notre formation au cours des deux dernières années.**

DÉDICACES

JE DÉDIE CET HUMBLE TRAVAIL AVEC GRAND AMOUR, SINCÉRITÉ

ET FIERTÉ,

A MES CHERS PARENTS, SOURCE DE TENDRESSE, NOBLESSE ET

D’AFFECTION, POUR TOUS L’ENSEIGNEMENT QUE VOUS M’AVEZ

TRANSMIS ; EN TÉMOIGNAGE DE MON ÉTERNELLE

RECONNAISSANCE.

A MES FRÈRES ET MES SŒURS, EN TÉMOIGNAGE DE LA

FRATERNITÉ, AVEC MES SOUHAITS DE BONHEUR, DE SANTÉ, ET

DE SUCCÈS.

À TOUS LES MEMBRES DE MA FAMILLE.

A TOUS MES AMIS, TOUS MES CAMARADES, TOUS MES

ENSEIGNANTS, ET À TOUTE PERSONNE AYANT CONTRIBUÉE À CE

TRAVAIL.

Baaziz Ahmed Chaouki

# ***Dédicace***

**À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,**

**À toute ma famille et mes amis surtout mon binôme chaouki pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,**

**Merci d'être toujours là pour moi.**

**ABDALLAH**

## **ABREVIATIONS :**

**AFNOR : association française de normalisation**

**AMM : autorisation de mise sur le marché**

**AQ : assurance qualité**

**BPF : bonne pratique de fabrication**

**CCM : chromatographie sur couche mince**

**COT : carbone organique total**

**CPG : chromatographie en phase gazeuse**

**DGAT : dénombrement des germes aérobies totaux.**

**DMLT : dénombrement des moisissures et levures totales.**

**EDTA: éthylène diamine tetra acétique**

**FDA: food and drug administration**

**HPLC : chromatographie en phase liquide a haute performance**

**ISO : organisation internationale de normalisation**

**LAL : lysat d'amœbocytes de limule**

**NEP : nettoyage en place**

**PPM : partie par million.**

**TSA : milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja.**

**TSB : milieu liquide aux peptones de caséine et de soja.**

**TSE : le tampon peptone au chlorure de sodium**

**UFC : unité formant colonie**

**VN : validation de nettoyage**

**VRBG : milieu gélosé a la bile-violet-rouge avec glucose**

**XLD : milieu gélosé xylose-lysine-desoxycholate.**

**ZAC : zones d'atmosphères contrôlées**

## LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Bactérie, <i>E.coli</i> .....	6
Figure 2 : Moisissures, <i>Aspergillus</i> .....	6
Figure 3: Les paramètres influençant le rinçage.....	11
Figure 4 : Cuve de mélange (transfère) pour le produit RESPINAL.....	19
Figure 5: Le prélèvement de l'eau de rinçage.....	21
Figure 6 : Appareil HPLC de marque VWR HITACHI 5410.....	23
Figure : 7. La phase stationnaire (ZORBAX ECLIPSE PLUS C18) .....	24
Figure 8: Rampe de filtration sur membrane.....	26
Figure 9: Résultats de la recherche des substances oxydantes dans les eaux de rinçage	39
Figure 10 : spectre UV-VIS de l'eau purifié.....	40
Figure 11 : spectre d'absorption de l'eau de rinçage.....	41
Figure 12: la comparaison du spectre d'absorption de l'eau pure et l'eau de rinçage....	41
Figure: 13 chromatogramme du témoin (oxymétazoline).....	42
Figure: 14 chromatogramme de l'eau pure.....	43
Figure: 15 chromatogramme de l'eau de rinçage.....	44
Figure 16 : Résultats après ensemencement sur milieu R2A.....	45
Figure 17: Résultat de recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	46
Figure 18: Résultat obtenu de la recherche des germes aérobies totaux de l'eau de rinçage n°03.....	48

## **LISTE DES TABLEAUX :**

<b>Tableau 1 : Classification particulière des ZAC selon les BPF.....</b>	<b>6</b>
<b>Tableau 2 : Classification microbiologique des ZAC selon les BPF.....</b>	<b>7</b>
<b>Tableau 3 : Avantages, Inconvénients et Applications des différentes méthodes d'analyse..</b>	<b>16</b>
<b>Tableau 4 : Caractéristiques des méthodes d'analyse physicochimiques.....</b>	<b>17</b>
<b>Tableau 5: Normes de la conductivité selon la température.....</b>	<b>22</b>
<b>Tableau 6 : Plan de prélèvement de l'eau pour l'analyse microbiologique.....</b>	<b>25</b>
<b>Tableau 7: Résultats de la conductivité de l'eau purifiée et l'eau de rinçage.....</b>	<b>38</b>
<b>Tableau 8 : Résultats du pH mètre.....</b>	<b>38</b>
<b>Tableau 9 : Résultats de la conformité des eaux purifiée et des eaux de rinçages.....</b>	<b>42</b>
<b>Tableau 10 : Tableau de comparaison entre l'eau de rinçage et l'eau purifié avec témoin.....</b>	<b>44</b>
<b>Tableau 11: Dénombrement en UFC, des trois échantillons d'eaux.....</b>	<b>46</b>
<b>Tableau 12: Résultats de l'examen microbiologique de l'eau de rinçage.....</b>	<b>47</b>

## TABLE DES MATIERES :

Remerciements

Dedicas

Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

1 Introduction .....	2
PREMIÈRE PARTIE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE .....	4
<b>I. L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE.....</b>	<b>6</b>
<b>I.1. Généralités.....</b>	<b>6</b>
<b>I.1.1 Les ateliers de production.....</b>	<b>6</b>
<b>I.1.2 Les ateliers de contrôle.....</b>	<b>6</b>
<b>I. 2 Les formes liquides du médicament .....</b>	<b>6</b>
<b>I.2.1. Définition .....</b>	<b>6</b>
<b>I.2.2. Les différentes formes liquides .....</b>	<b>7</b>
<b>I. 3. La qualité au sein de l'industrie pharmaceutique .....</b>	<b>7</b>
<b>I. 3.1. Définition de la qualité .....</b>	<b>8</b>
<b>I. 3.2. L'Assurance Qualité .....</b>	<b>8</b>
<b>I. 3.3. Le Contrôle Qualité.....</b>	<b>8</b>
Chapitre II : .....	9
<b>LA CONTAMINATION DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE .....</b>	<b>9</b>
<b>II. LA CONTAMINATION DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE .....</b>	<b>10</b>
<b>II. 1. Définition de la contamination .....</b>	<b>10</b>
<b>II .2. Types de contamination .....</b>	<b>10</b>
<b>II.2.1. Contaminations croisées .....</b>	<b>10</b>
<b>II.2.2. Contaminations particulières.....</b>	<b>10</b>
<b>II.2.3. Contaminations microbiologiques .....</b>	<b>11</b>
<b>II.2.4. contaminations chimiques .....</b>	<b>12</b>



<b>II .3. sources et vecteurs de contaminations.....</b>	<b>12</b>
<b>II.3.1. Les personnes : .....</b>	<b>12</b>
<b>II.3.2. Les emballages .....</b>	<b>13</b>
<b>II.3.3. Le matériel de production .....</b>	<b>13</b>
<b>II.3.4. Les fluides du process.....</b>	<b>13</b>
<b>II.3.5. L'environnement .....</b>	<b>13</b>
<b>II.4. Les récepteurs de la contamination .....</b>	<b>13</b>
Chapitre III:.....	14
<b>NETTOYAGE : ASPECT TECHNIQUE ET VALIDATION.....</b>	<b>14</b>
<b>III. Nettoyage : aspect technique et validation .....</b>	<b>15</b>
<b>III.1. Définition .....</b>	<b>15</b>
<b>III.2. paramètres influençant le nettoyage .....</b>	<b>15</b>
<b>III.3. Les méthodes de nettoyage.....</b>	<b>15</b>
<b>III.3.1. Le nettoyage manuel.....</b>	<b>15</b>
<b>III.3.2. Le nettoyage semi-automatique .....</b>	<b>15</b>
<b>III.3.3. Le nettoyage automatique .....</b>	<b>16</b>
<b>III.4. Les détergents.....</b>	<b>16</b>
<b>III.4.1. Les détergents alcalins.....</b>	<b>16</b>
<b>III.4.2. Les détergents acides .....</b>	<b>16</b>
<b>III.4.3. Les tensioactifs .....</b>	<b>16</b>
<b>III.4.4. Les sequestrants ou les chelatants : .....</b>	<b>16</b>
<b>III.5. Désinfection .....</b>	<b>17</b>
<b>III.6. Rinçage.....</b>	<b>17</b>
<b>III.6.1. Types de rinçage .....</b>	<b>17</b>
<b>III.7. Validation du nettoyage .....</b>	<b>18</b>
<b>III.7.1. Définition .....</b>	<b>18</b>
<b>III.7.2. Contexte réglementaire .....</b>	<b>18</b>
<b>III.7.3. Stratégies de la validation du nettoyage.....</b>	<b>18</b>
<b>III.7.4. Protocole de validation .....</b>	<b>19</b>
<b>III.7.5. Rapport de validation .....</b>	<b>19</b>
Chapitre IV : .....	20
<b>METHODES ANALYTIQUES ET.....</b>	<b>20</b>

VALIDATION DU NETTOYAGE.....	20
<b>V.7. Méthodes analytiques et validation du nettoyage .....</b>	<b>21</b>
<b>V.7. 1. Critères de choix .....</b>	<b>21</b>
<b>V.7.2. Méthodes d'analyses physicochimiques.....</b>	<b>21</b>
<b>V.7.2.1. Méthodes globale (non spécifique) .....</b>	<b>21</b>
<b>V.7.2.2. Méthodes spécifiques.....</b>	<b>22</b>
<b>V.7.3. Méthodes d'analyse microbiologiques .....</b>	<b>24</b>
DEUXIÈME PARTIE: MATERIEL ET METHODES.....	25
<b>I. Matériel à nettoyer .....</b>	<b>26</b>
<b>II. Le détergent .....</b>	<b>27</b>
<b>III. Le protocole du nettoyage.....</b>	<b>27</b>
IV. prélèvement des eaux de rinçage.....	28
<b>V. Méthodes analytiques .....</b>	<b>28</b>
<b>V.1. Analyses physicochimique des eaux de rinçages.....</b>	<b>28</b>
<b>V.1.1.Méthode globale (non Spécifiques) d'analyses physicochimiques.....</b>	<b>29</b>
V.1.1.1 Caractère.....	29
V.1.1.2 Mesure du pH de l'eau de rinçage.....	29
V.1.1.3 Mesure de conductivité .....	29
V.1.1.4 Recherche des substances oxydantes .....	30
V.1.1.5 Spectrophotométrie UV-Visible. ....	30
<b>V.1.2. Méthode spécifique d'analyses physicochimiques .....</b>	<b>30</b>
V.1.2.1 Recherche des traces du principe actif par chromatographie liquide de haute performance HPLC.....	30
<b>V.2. Contrôles microbiologiques des eaux.....</b>	<b>31</b>
<b>V.2.1. Prélèvement d'échantillons d'eaux.....</b>	<b>32</b>
<b>V.2.2. Recherche des contaminants microbiens dans les eaux purifiée et potable de la station de purification .....</b>	<b>32</b>
V.2.2.1. Filtration sur membrane.....	32
<b>V.2.3. Examen microbiologique de l'eau de rinçage .....</b>	<b>34</b>
V.2.3.1. Milieux de cultures .....	34
V.2.3.2. Préparation des dilutions .....	34
V.2.3.3. Procédures d'examen .....	34

<b>TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>37</b>
<b>I. Les analyses physicochimiques.....</b>	<b>38</b>
<b>I.1. Caractères des eaux de rinçages .....</b>	<b>38</b>
<b>I.2. Résultats de la Conductivité, le pH et la Température.....</b>	<b>38</b>
<b>I.3. Substances oxydantes .....</b>	<b>39</b>
<b>I.4. La spectrophotométrie UV - VIS.....</b>	<b>40</b>
<b>I.5. Chromatographie liquide de haute performance.....</b>	<b>42</b>
<b>II. Résultats des analyses microbiologiques .....</b>	<b>45</b>
<b>II.1. Recherche des contaminants microbiens dans les eaux purifiée et potable. ....</b>	<b>45</b>
<b>II.2. Examen microbiologique de l'eau de rinçage .....</b>	<b>46</b>

**Références bibliographiques**

**Annexes :**

**Résumé :**

**Abstract :**

**الملخص**

# INTRODUCTION

# 1 Introduction

La qualité joue un rôle clé dans l'industrie pharmaceutique. Pour être compétitive, une industrie pharmaceutique doit gagner la confiance de ses clients et des autorités réglementaires en assurant la qualité de ses produits.

Le niveau d'exigence de la qualité requise pour les produits de santé continue de croître au fur et à mesure de l'évolution des connaissances scientifiques, dans le but de garantir l'absence de risque lié au produit. Seul un système d'assurance de la qualité, peut aujourd'hui autoriser la libération d'un produit sur le marché ; à cet effet, tout site pharmaceutique dispose de nos jours d'un département spécifique chargé de mettre en place la politique qualité [13].

Le nettoyage est l'un des facteurs les plus importants influençant la qualité des produits pharmaceutiques ; par conséquent, il est nécessaire d'établir des bases scientifiques pour la réussite du processus de nettoyage, afin de ne pas nuire à la qualité des produits pharmaceutiques.

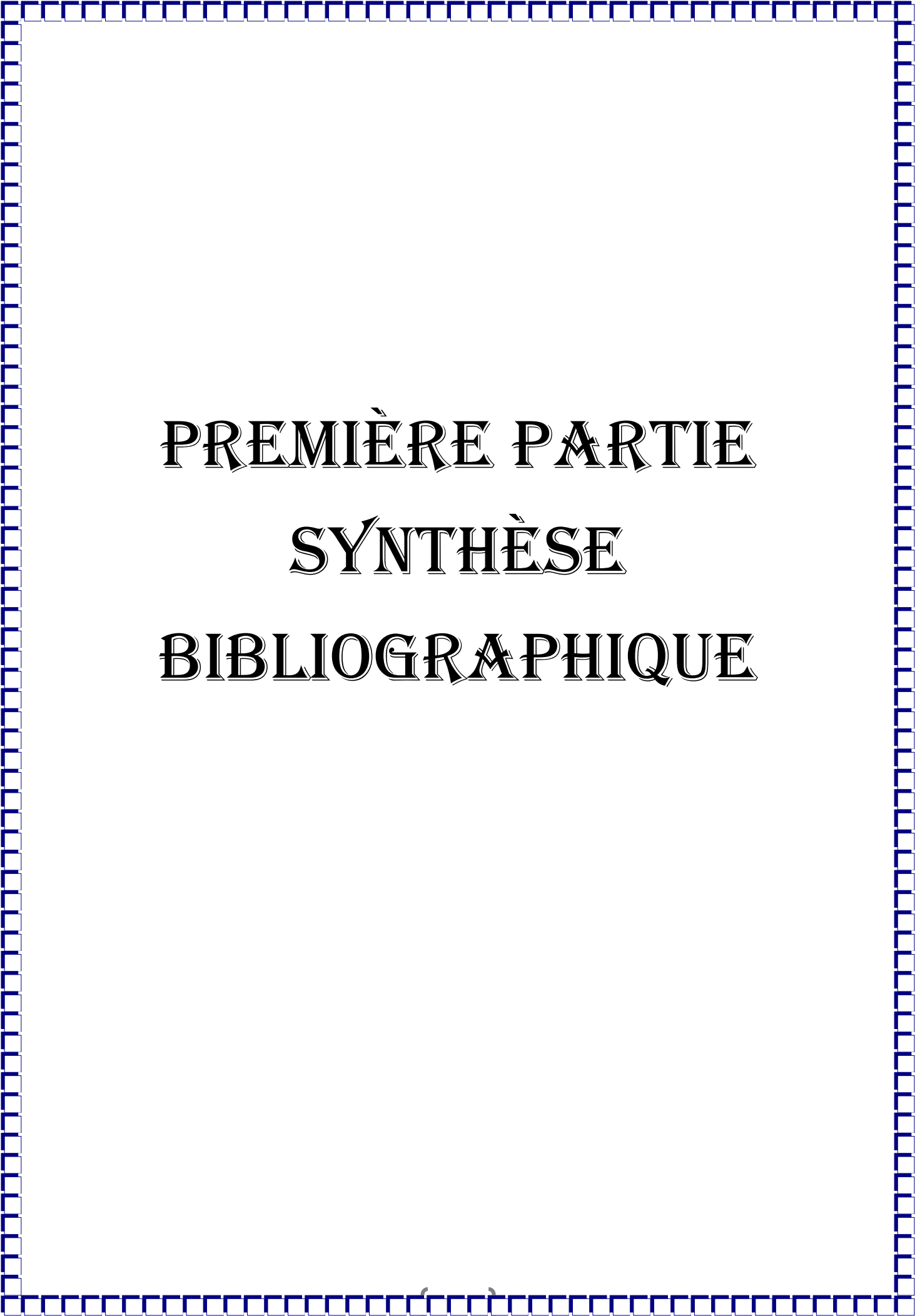
En raison de l'importance du nettoyage dans la qualité des produits pharmaceutiques, des procédures de validation de nettoyage sont requises pour vérifier l'efficacité du nettoyage. L'objectif de ce présent travail est d'essayer de réaliser un nettoyage et une décontamination adéquate d'une cuve de fabrication d'un médicament de forme liquide, dans un premier lieu, vérifier par la suite l'efficacité et la conformité du procédé du nettoyage avec les directives et les recommandations de la pharmacopée européenne, pour enfin valider le processus du nettoyage par une preuve documenté concluante.

Pour répondre à cet objectif, différentes étapes doivent être réalisées:

- Nettoyage de la cuve par un détergent spécifique.
- Échantillonnage et analyses physicochimiques et microbiologiques des eaux de rinçages et des eaux purifiées.

Notre travail est structuré en trois parties dont la première est une revue bibliographique traitant l'industrie pharmaceutique et les différents types de contaminations trouvées ; Cette partie est achevée par la description de quelque technique du nettoyage, les différentes stratégies de la validation, ainsi que les méthodes analytiques utilisées dans les processus de validation.

La seconde partie est consacrée à la méthodologie du travail et la troisième expose nos résultats obtenus comparés et discutés, suivie d'une conclusion générale et des perspectives.



**PREMIÈRE PARTIE**  
**SYNTHÈSE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **Chapitre I**

## **L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE**



## I. L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

### I.1. Généralités

L'industrie pharmaceutique est le secteur économique stratégique qui regroupe les activités de recherche, de fabrication et de commercialisation des médicaments pour la médecine humaine ou vétérinaire. C'est une des industries les plus rentables et importantes économiquement dans le monde. Cette activité est exercée par les laboratoires pharmaceutiques et les sociétés de biotechnologie et reste un secteur clé et un important moteur de croissance de l'économie mondiale [20].

Dans l'industrie pharmaceutique, on trouve deux grandes entités :

- ✓ Les ateliers de production.
- ✓ Les ateliers de contrôle.

#### I.1.1 Les ateliers de production

Les ateliers sont séparés en autant de formes à fabriquer :

- ✓ Formes sèches (comprimés, gélules).
- ✓ Formes liquides (sirops, .....).
- ✓ Formes pâteuses (pommades, suppositoires).

Des ateliers doivent être totalement séparés des autres :

Des parties communes :

- ✓ La centrale de pesée.
- ✓ La laverie.
- ✓ Le conditionnement secondaire.

#### I.1.2 Les ateliers de contrôle

Comportent aussi plusieurs unités :

- ✓ Le contrôle physicochimique : identité, pureté, dosage.
- ✓ Le contrôle galénique.
- ✓ Le contrôle microbiologique : unité séparée des autres.

Les contrôles pharmacologiques et toxicologiques sont effectués essentiellement au niveau de la recherche et développement [11].

## I. 2 Les formes liquides du médicament

### I.2.1. Définition

Par définition un médicament est considéré comme toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal, ou pouvant leur être administrée en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique [10].

Un médicament se compose d'un ou de plusieurs principes actifs et d'excipients. L'ensemble est contenu dans un récipient [27].

- **Principe actif (P.A)**

C'est une substance susceptible de prévenir ou de faire cesser un trouble déterminé dans l'organisme. En d'autres termes, c'est l'élément possédant les propriétés curatives et/ou préventives du médicament [23].

- **Excipient ou adjuvant**

Les excipients est un mélange de substances dites auxiliaires, inactives par elles-mêmes sur la maladie, qui facilitent la préparation et l'emploi du médicament. Celui-ci comporte en plus le conditionnement qui en facilite la délivrance, l'utilisation et en assure la conservation [23].

### I.2.2. Les différentes formes liquides

- Formes multi doses

a) Le sirop

b) Liquides pour admission orale: solution ou suspension contenant un ou plusieurs principes actifs dans un solvant approprié : eau, alcool et les huiles.

Les émulsions peuvent présenter des signes de séparation des phases, mais doivent être facilement reconstituées par agitation.

- Formes unitaires.

Ampoules buvable : répartition d'un soluté buvable dans des ampoules.

## I. 3. La qualité au sein de l'industrie pharmaceutique

La mise en œuvre d'une politique de la qualité, a pour objet de garantir dans l'intérêt de la santé publique que les médicaments délivrés, répondent aux spécifications de l'AMM (l'Autorisation de Mise sur le Marché), afin d'offrir et de conserver la qualité, la sécurité et l'efficacité requises pour l'usage prévu. Pour atteindre ces objectifs, il existe une organisation clairement définie et établie qui englobe les BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication), et le contrôle qualité [1].

### **I. 3.1. Définition de la qualité**

Elle est définie comme telle par la norme ISO 8402 : «la qualité représente l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit, processus ou service qui lui confèrent son aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites» [6].

### **I. 3.2. L'Assurance Qualité**

L'Assurance Qualité (AQ) permet une organisation efficace de la qualité depuis la réception des matières premières jusqu'à l'expédition des produits finis.

Dans les BPF, l'assurance qualité représente " l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les médicaments fabriqués sont de la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés"[1].

### **I. 3.3. Le Contrôle Qualité**

Le contrôle de la qualité fait partie des bonnes pratiques de fabrication ; il concerne l'échantillonnage, les spécifications, le contrôle, ainsi que les procédures d'organisation, de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées ont réellement été effectuées et que les matières premières, les articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, la vente ou l'approvisionnement sans que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante [7].

## **Chapitre II**

# **LA CONTAMINATION DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE**

## II. LA CONTAMINATION DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

### II. 1. Définition de la contamination

On entend par contamination, 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 ». La contamination entraîne donc un défaut dans la qualité du produit fini ; ainsi, le médicament ne répond plus aux exigences essentielles du dossier d'AMM, à savoir : qualité, sécurité et efficacité [4].

### II .2. Types de contamination

Il existe plusieurs types de contaminations :

- ✓ La contamination **croisée** : d'un produit ou d'un composant par un autre
- ✓ La contamination **particulaire**,
- ✓ La contamination **microbiologique**,
- ✓ La contamination **chimique** [9].

#### II.2.1. Contaminations croisées

Il sont définie dans les BPF par la libération incontrôlée de poussières, gaz, vapeurs, aérosols ou organismes à partir des matières premières et des produits en cours de fabrication, des résidus provenant du matériel et des vêtements des opérateurs [28].

#### II.2.2. Contaminations particulières

Dans les contaminations particulières, les contaminants ont plusieurs origines : tellurique, usure des équipements et des machines, les vêtements...

Les particules sont caractérisées par leur diamètre exprimé en micromètres ( $\mu\text{m}$ ). 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. Cette mesure conduit à la classification des zones d'atmosphères contrôlées (**ZAC**) dans les bonnes pratiques de fabrication, comme illustré dans le tableau 1 [17].

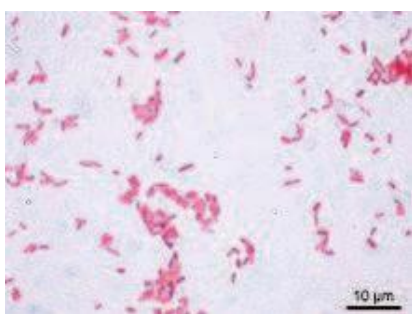
**Tableau 1 : Classification particulière des ZAC selon les BPF [12].**

Classe de ZAC	Au repos		En activité	
	0,5	5	0,5	5
Taille des particules (µm)				
A	3500	0	3500	0
B	3500	0	350000	2000
C	3500	2000	3500000	20000
D	350000 0	20000	Non défini	Non défini

### II.2.3. Contaminations microbiologiques

Dans ce type de contamination, les contaminants regroupent l'ensemble des organismes vivants de petite taille tels que les levures, moisissures, bactéries, virus. Dans des conditions favorables de température, d'humidité, de pH, de milieu nutritif, ces microorganismes ont la particularité de se multiplier très rapidement. Ils colonisent les surfaces et créent des biofilms. La quasi-totalité des microorganismes présents dans l'environnement sont fixés sur des surfaces ou des particules [17].

Les microorganismes peuvent présenter un risque infectieux, pouvant entraîner une maladie ou un risque toxique (production d'une toxine). Des exemples des microorganismes cités en haut est illustré dans la figure 1 et 2.



**Figure 1 : Bactérie, *E.coli* (12)**



**Figure 2 : Moisissures, *Aspergillus* (12)**

La contamination microbiologique est mesurée en nombre d'UFC (unité formant colonie). Cette mesure permet la classification des zones d'atmosphères contrôlées (ZAC), tableau 2, dans les bonnes pratiques de fabrication [17].

**Tableau 2 : Classification microbiologique des ZAC selon les BPF [12].**

Classe	Echantillon d'air UFC/m <sup>3</sup>	Boîte de pétri (diamètre 90cm) UFC/4heures	Boîte de contact (diamètre 55cm) UFC/plaque	Empreinte de gant (5 doigts) UFC/gant
A	< 1	<1	<1	<1
B	10	5	5	1
C	100	50	25	Non défini
D	200	100	50	Non défini

#### **II.2.4. contaminations chimiques**

Ce genre de contamination consiste en la présence d'éléments chimiques indésirables de concentration plus ou moins importante pouvant aller jusqu'à la contamination moléculaire (exprimée en ppm). Les contaminations chimiques peuvent être présentes sous forme de fines particules, aérosols ou gaz. La contamination croisée citée en haut est souvent classée dans la contamination chimique. En effet, il s'agit de la contamination généralement chimique, d'un produit par un autre, soit directement, soit par l'intermédiaire d'un équipement de production. Cette contamination peut se produire lors de la fabrication simultanée de deux produits dans des zones voisines ou lors de la fabrication successive sur les mêmes équipements [17].

### **II.3. sources et vecteurs de contaminations**

Les vecteurs de la contamination sont multiples :

#### **II.3.1. Les personnes :**

La contamination générée par une personne est très importante : le nombre de particules émises par minute peut varier d'environ 100 000 au repos à 30 millions en forte activité.

### **II.3.2. Les emballages**

La contamination peut provenir des contenants pour matières premières, de mauvaises conditions de stockage, ou de manipulations sans précaution ni protection.

### **II.3.3. Le matériel de production**

Le matériel de fabrication et de conditionnement, le matériel de transfert des produits et des fluides, le matériel de manutention, et le matériel de nettoyage ou de désinfection [26].

### **II.3.4. Les fluides du process**

L'eau utilisée dans la fabrication et de nettoyage, les liquides divers comme les détergents, les fluides constituant les garnitures, les lubrifiants, graisses nécessaires au fonctionnement des pièces et qui se prêtent aisément à la prolifération bactérienne, ainsi que les gaz, par exemple l'air comprimé.

### **II.3.5. L'environnement**

Il s'agit de l'air ambiant, qui peut véhiculer des poussières, gaz, aérosols ou organismes à partir des matières premières et produits en cours de fabrication, du personnel et du matériel environnant, mais aussi le sol, le plafond, les surfaces, ... [26].

## **II.4. Les récepteurs de la contamination**

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

- ✓ des matières premières
- ✓ des articles de conditionnement primaire
- ✓ des produits intermédiaires semi-finis
- ✓ des produits fini ou produit vrac [26].



# **Chapitre III**

## **NETTOYAGE : ASPECT TECHNIQUE ET VALIDATION**

### **III. Nettoyage : aspect technique et validation**

#### **III.1. Définition**

Selon la définition de l'AFNOR (Norme 50-109), « le nettoyage est une opération qui consiste à éliminer d'une surface donnée toute souillure visible ou invisible pouvant s'y trouver. »

L'objectif du nettoyage est d'éliminer toutes traces de souillures ou de contaminants afin de maîtriser du mieux possible le risque de contamination croisée. [16]

Le nettoyage est donc considéré comme une opération de production à part entière, il est à la fois le premier maillon de la chaîne de production étant donné que nous avons besoin d'un équipement propre pour fabriquer un produit pur, et en est le dernier car on nettoie toujours à la fin de l'utilisation [2].

#### **III.2. paramètres influençant le nettoyage**

Le nettoyage se définit par l'interaction de 4 facteurs qui permettent d'obtenir un équipement visuellement propre et sec et répondant aux limites fixées pour les résidus de principe actif, agent de nettoyage et en terme de contamination microbienne.

Les 4 facteurs clés du nettoyage sont :

- **l'action chimique**
- **l'action mécanique**
- **la température de lavage**
- **le temps [16]**

#### **III.3. Les méthodes de nettoyage**

On peut distinguer 3 types de nettoyage : manuel, semi-automatique et automatique.

##### **III.3.1. Le nettoyage manuel**

Ce mode de nettoyage est très intéressant pour les petites pièces ou les zones difficiles à nettoyer qui ne seraient pas accessibles par d'autres moyens.

##### **III.3.2. Le nettoyage semi-automatique**

Ce nettoyage permet de limiter l'intervention de l'opérateur comme la préparation de la solution détergente (réduction du risque d'accident lors de la manipulation du détergent) [16].

### **III.3.3. Le nettoyage automatique**

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

L'enchaînement des opérations s'effectue dans des conditions prédéterminées. Ce type de nettoyage assure la meilleure reproductibilité mais requiert des installations lourdes et coûteuses [22].

### **III.4. Les détergents**

Il existe de nombreuses formules détergentes mais le plus souvent, on retrouve les mêmes compositions : 80 à 95% de sels minéraux (acides ou alcalins) et 5 à 20% de composants organiques (tensioactif, séquestrant, dispersant, chélateur, enzymes, ...) [16].

#### **III.4.1. Les détergents alcalins**

Ce sont des produits constitués de bases ou de sels minéraux alcalins ayant un pH supérieur à 10. Le détergent modifie les caractéristiques physiques du dépôt de la souillure ce qui augmentent la solubilisation, l'hydratation du dépôt et facilite son élimination.

#### **III.4.2. 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.

#### **III.4.3. Les tensioactifs**

Ce sont des structures amphiphiles avec une partie hydrophile et une partie lipophile. L'addition de ces tensioactifs dans les solutions détergentes permet de diminuer la tension superficielle de l'eau en créant des structures micellaires autour de la souillure.

#### **III.4.4. Les sequestrants ou les chélatants :**

Ils sont ajoutés dans les solutions détergentes pour éviter la formation des dépôts minéraux.

Ils sont utiles dans les régions où l'eau est dure et chargée en minéraux. Ils améliorent la qualité de l'eau ce qui rend le détergent plus efficace.

Les plus souvent utilisés sont l'EDTA et les phosphonates [16].

### III.5. Désinfection

On entend par désinfection, les mesures prises pour la diminution partielle ou totale des germes saprophytes.

### III.6. Rinçage

Le rinçage est une opération qui élimine avec de l'eau les particules qui adhèrent faiblement à la surface des équipements [3].

#### III.6.1. Types de rinçage

Plusieurs types de rinçage sont à considérer :

- **Le pré rinçage** : effectué entre la fin de la production et le nettoyage proprement dit, élimine la majorité de la matière organique restant dans l'équipement ;
- **Le rinçage intermédiaire** : effectué entre différentes étapes de nettoyage désinfection, assure l'élimination plus ou moins complète d'un détergent présent dans l'équipement.
- **Le rinçage final** : destiné à laisser l'équipement dans un état de propreté satisfaisant pour permettre la reprise de la production. Ce rinçage doit éliminer avec l'eau purifiée, toutes les traces de produits chimiques ou désinfectants restant dans l'équipement [3].

Le rinçage est influencé par plusieurs paramètres qui sont illustré dans la figure 3.



Figure 3: Les paramètres influençant le rinçage [3].

### III.7. Validation du nettoyage

#### III.7.1. Définition

Selon les BPF, la validation du nettoyage est « la preuve documentée qu'une procédure de nettoyage approuvée fournira des équipements adaptés à la fabrication de médicaments » [18]. Valider un procédé de nettoyage, c'est démontrer, de manière scientifique et documentée, que les différentes étapes de ce procédé permettent d'obtenir dans les conditions préétablies, une surface ne comportant pas de contamination résiduelle supérieure à une limite préalablement fixée, ceci de manière reproductible [21].

La validation du nettoyage d'un matériel de fabrication a pour objectif de démontrer que la procédure de nettoyage et le programme de lavage permettent d'obtenir des résultats satisfaisants d'un point de vue bactériologique, chimique et éliminent les risques de contamination croisée. Cette validation va concerner les cuves de stockage dédiées, les canalisations de transfert et la cuve tampon de la ligne de répartition [4].

#### III.7.2. Contexte réglementaire

Les BPF exigent que les opérations de nettoyage soient « validées en vue de confirmer l'efficacité de la procédure de nettoyage. Les teneurs limites en résidus, produits de nettoyage et contamination microbienne doivent logiquement être fixées en fonction des matériaux et des produits utilisés. Ces limites doivent pouvoir être atteintes et vérifiées. »

Du côté de la FDA (Food and Drug Administration), elle a rédigé en 1993 un guide à l'usage des inspecteurs spécifique à la validation de nettoyage et qui précise les grandes lignes de la démarche.

La validation de nettoyage est considérée comme un point critique et fait presque systématiquement l'objet des questions lors d'audits par des clients ou d'inspections par des agences européennes ou américaines [16].

#### III.7.3. Stratégies de la validation du nettoyage

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

Pour mettre en place un programme de validation du nettoyage, il est nécessaire:

- de mettre en place des moyens adaptés (matériels, opérateurs, encadrement... )
- de définir les tâches de chaque participant
- de nommer un responsable de projet pour la mise en place et le suivi.

La validation d'une procédure de nettoyage ne pourra se faire qu'une fois que :

- une procédure précise soit écrite,
- le matériel ait été nettoyé et séché,
- la procédure de nettoyage ait été suivie scrupuleusement,
- les étapes de nettoyage aient été réalisées par du personnel qualifié,
- le matériel soit exempt de résidus visibles à l'œil nu. (mémoire Laurence CONTE)

Trois essais de validations sont réalisés dans les mêmes conditions; quand on demande à la FDA pourquoi nous sommes tenus à 3 essais : elle répond que si le résultat est conforme 1 fois c'est un accident, 2 fois c'est une coïncidence, 3 fois c'est une validation [2].

### III.7.4. Protocole de validation

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

- ✓ Champ d'application de la validation,
- ✓ Définition des produits, procédés et équipements,
- ✓ Définition des limites d'acceptation,
- ✓ Choix des points de prélèvement,
- ✓ Sélection des méthodes de prélèvement (surface, rinçage...),
- ✓ Identification des méthodes analytiques,
- ✓ Détermination du rendement de récupération,
- ✓ Choix des temps critiques (durée avant nettoyage, durée de péremption...),
- ✓ Mode opératoire avec la description des tests à réaliser,
- ✓ Responsabilités,
- ✓ Planning [12].

### III.7.5. Rapport de validation

Le rapport de validation est établi après la validation. Ce document a pour fonction d'analyser les données brutes dans le but de prendre une décision ou de traduire une tendance. Le principe de la validation et les critères d'acceptation doivent être rappelés. Si la période de mise en œuvre, si les personnes en charge de la validation ou si les conditions opératoires ont été différentes de celles mentionnées dans le protocole, ces différences doivent être justifiées. Les résultats doivent être présentés de façon synthétique. Ils doivent donner lieu à une analyse. Celle-ci est discutée par rapport aux critères requis. Les conclusions du rapport doivent être claires et objectives. Elles doivent conduire à des propositions et des recommandations pour améliorer, changer ou entériner les procédures de nettoyage [12].

**Chapitre IV**

**METHODES ANALYTIQUES**

**ET VALIDATION DU**

**NETTOYAGE**

### V.7. Méthodes analytiques et validation du nettoyage

#### V.7.1. Critères de choix

La méthode d'analyse est choisie selon les critères suivants :

- ✓ sensibilité,
- ✓ spécificité,
- ✓ linéarité,
- ✓ exactitude,
- ✓ répétabilité / reproductibilité,
- ✓ seuil de détection [1].

#### V.7.2. Méthodes d'analyses physicochimiques

Dans la VN, des méthodes analytiques validées dont la sensibilité permet la détection des résidus ou contaminants doivent être utilisées. La limite de détection de chaque méthode analytique doit être suffisamment basse pour permettre de détecter le niveau de résidu ou de contaminant acceptable établi [2].

Les méthodes présentées dans ce paragraphe ne sont pas les seules à être appliquées mais elles sont les plus fréquemment rencontrées lors des validations de nettoyage [1].

##### V.7.2.1. Méthodes globale (non spécifique)

- **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 actifs électriquement, donc essentiellement des minéraux.

Les avantages de cette méthode sont:

- ✓ Une application à la recherche des traces d'agents de nettoyage,
- ✓ L'analyse peut se faire sur le lieu de prélèvement ou au laboratoire,
- ✓ L'obtention d'un résultat immédiat [1].

- **PH**

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 2 électrodes judicieusement choisies plongent dans la solution à examiner [15].



- **Carbone Organique Total (COT)**

Le dosage du carbone organique total (COT) est une méthode de mesure indirecte des substances organiques présentes dans l'eau pour usage pharmaceutique. Cette méthode peut également servir à contrôler le déroulement de diverses opérations intervenant dans la préparation des médicaments [8].

### V.7.2.2. Méthodes spécifiques

- **Spectrophotométrie UV-Visible**

La technique de spectrophotométrie ou d'absorptiométrie est basée sur la propriété de la matière, et plus particulièrement de certaines molécules, d'absorber certaines longueurs d'ondes du spectre UV-visible. Elle permet de réaliser des dosages grâce à la loi de Beer-Lambert qui montre une relation de proportionnalité entre l'absorbance et la concentration, aussi bien qu'une étude structurale des complexes par l'étude des spectres d'absorption.

Cette méthode est basée sur l'utilisation d'un spectrophotomètre qui détermine l'absorption d'une solution pour une longueur d'onde donnée ou pour une plage de longueurs d'ondes judicieusement choisie [25].

- **Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)**

C'est une méthode d'analyse importante couramment utilisée pour séparer et quantifier les composants d'échantillons liquides. Dans cette technique, une solution (première phase) est pompée à travers une colonne contenant un emballage de petites particules poreuses avec une deuxième phase liée à la surface. Les solubilités différentes des composants de l'échantillon dans les deux phases causent les composants à se déplacer dans la colonne avec des vitesses moyennes différentes, créant ainsi une séparation de ces composants. La solution de pompage est appelée la phase mobile, tandis que la phase de la colonne est appelée la phase stationnaire [19].

- **chromatographie sur couche mince (CCM)**

➤ La chromatographie sur couche mince est la plus simple des méthodes chromatographiques. Elle consiste à placer sur une feuille (papier, silice ou autre, voir plus loin) une tache et de la laisser élué en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé **éluant**), l'éluant diffuse le long du support. La tache migre sur la feuille plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant [24].

- **Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

Le principe de la séparation par C.P.G. consiste à partager l'échantillon à analyser entre deux phases. L'une de ces phases est un liquide stationnaire uniformément réparti sous forme d'une pellicule mince sur un solide inerte de grande surface spécifique, tandis que l'autre phase est un gaz mobile qui s'écoule à travers l'ensemble stationnaire [5].

Les tableaux 3 et 4 résument les caractéristiques et les avantages des différentes techniques déjà décrites en haut.

**Tableau 3 : Avantages, Inconvénients et Applications des différentes méthodes d'analyse [29].**

AVANTAGES	INCONVENIENTS	APPLICATIONS
<b>MESURE DU PH</b>		
Rapide Peu coûteux Peut être adapté à la surveillance en ligne	Non spécifique Pour composés solubles dans l'eau	Agent de nettoyage
<b>RESISTIVITE / CONDUCTIVITE</b>		
Rapide Peut être adapté à la surveillance en ligne	Non spécifique	Agent de nettoyage
<b>COT (CARBONE ORGANIQUE TOTAL)</b>		
Applicable aux produits organiques et hydrosolubles Haute sensibilité	Non spécifique Appareillage coûteux	Résidus chimiques Excipients Agent nettoyage Protéines
<b>SPECTROPHOTOMETRIE</b>		
Plus sensible	Peu spécifique	Résidus chimiques Excipients
<b>CCM(CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE)</b>		
Spécifique Peu coûteux	Sensibilité insuffisante dans certains cas	Résidus chimiques Excipients
<b>CLHP (CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE)</b>		
Spécifique Suffisamment sensible et spécifique Quantification précise	Appareillage et personnel qualifiés nécessaires Méthode plus coûteuse	Résidus chimiques Excipients
<b>CPG (CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE)</b>		
Mêmes caractéristiques que la CLHP		Résidus chimiques Excipients

**Tableau 4 : Caractéristiques des méthodes d'analyse physicochimiques [29].**

METHODE	CARACTERISTIQUES					
	Sensibilité	Spécificité	Identification	Rapidité	Simplicité	Coût
Mesure du pH	++	+	Non	+++	+++	++
Résistivité / Conductivité	++	+	Non	+++	+++	++
Spectrophotométrie	+++	++	Oui	++	+++	++
CCM	++	+++	Oui	++	++	++
CLHP	+++	+++	Oui	++	+	+++
CPG	+++	+++	Oui	++	+	+++
COT	+++	Non	Oui	++	++	+++

### V.7.3. Méthodes d'analyse microbiologiques

Parmi les méthodes d'analyse microbiologique, certaines sont décrites à la

Pharmacopée Européenne, et d'autres ont été développées notamment par l'industrie agroalimentaire.

Notons que, quelle que soit la technique employée, ce sont les résultats qui importent, et leur interprétation de par leur comparaison et leur nombre.

Les méthodes les plus employées et décrites à la Pharmacopée Européenne sont la filtration sur membrane, qui ne convient qu'aux échantillons sous forme liquide, l'ensemencement direct qui convient aux échantillons liquides et solides, et le test **LAL** qui permet la détection des endotoxines, ce qui peut témoigner d'une contamination microbiologique ancienne. Ce dernier test est relativement coûteux, et n'est appliqué que dans le cas des formes stériles.

D'autres méthodes moins fiables et plus coûteuses, comme l'ATP-métrie ou l'épifluorescence peuvent être utilisées pour le contrôle en ligne de la contamination microbiologique.

En général, pour la validation de nettoyage, on utilise des méthodes décrites à la Pharmacopée, et qui sont de fait déjà validées [22].

DEUXIÈME PARTIE:  
MATÉRIEL  
ET MÉTHODES

## MATERIEL ET METHODES

Le présent travail a été réalisé durant la période de février à mai 2018 au niveau du site industriel pharmaceutique **BIOGALENIC, Constantine. Sarl (Société à Responsabilité Limitée)**. **BIOGALENIC** est l'une des sociétés de droit Algérien, créée en 1999. Cette unité fabrique et contrôle environ 86 médicaments couvrant plusieurs spécialités médicales.

Notre démarche consiste en premier lieu à effectuer un procédé adéquat de nettoyage avec un détergent spécifique ; le but du nettoyage est d'atteindre un état appelé propreté, ou absence de salissures (propreté chimique liée aux détergents, ainsi qu'une propreté microbiologique liée à l'activité biologique des microorganismes). Ensuite, nous faisons une série d'analyses physicochimique et microbiologiques documentées sur les eaux de rinçage pour connaître l'efficacité du nettoyage. Le procédé du nettoyage est vérifié en procédant à trois répétitions consécutives. L'obtention d'un résultat de qualité (propreté adéquate avec un faible cout) va nous permettre de confirmer le choix de la méthode et essayer de valider et adoptés le procédés à l'avenir.

### I. Matériel à nettoyer

Nous avons appliqué la procédure de nettoyage à une nouvelle cuve de mélange (transfère) pour le produit de forme liquide « **RESPINHAL** », la capacité de la cuve est de 200 litres, avec un poids de 80kg, et fabriqué en acier inoxydable ; de marque : TITANFU comme le montre la figure 4 .



**Figure 4 : Cuve de mélange (transfère) pour le produit RESPINHAL.**

## II. Le détergent

Le nettoyage doit satisfaire trois principales exigences qui sont :

1. Éliminer la souillure
2. Ne pas altérer le matériau
3. Ne pas être un facteur de contamination ni un vecteur de transfert de Contamination.

Pour répondre à cette objectif nous avons utilisé un détergent désinfectant polyvalent **ANIOSTERIL DDN**, c'est un détergent certifié par l'entreprise dans les opérations de nettoyage des matériaux, il est indiqué pour le nettoyage et désinfection des surfaces et du matériel pouvant entrer en contact avec les denrées alimentaires, la composition chimique du détergent est le N-(3-aminopropyl)-N-dodécylpropane-1,3-diamine. Le produit actif possède une activité bactéricide. (Voir fiche technique du détergent en Annexes 2).

## III. Le protocole du nettoyage

Pour l'équipement de production des produits pharmaceutiques ils existent deux types de nettoyage : un nettoyage majeur et mineur ; le nettoyage mineur est effectué après chaque processus de production, pratiquement tous les jours, d'autre part le nettoyage majeur est effectué dans le cas de changement de produit ou de matériel de production.

Nous avons choisi le nettoyage majeur en raison des contraintes liées à la validation de ce dernier.

Le nettoyage est effectué manuellement dans une chambre dédié au procédé de nettoyage, et équipé de toutes les fournitures de nettoyage, selon les étapes suivantes :

Nous préparons à l'avance les produits de nettoyage : ANIOSTERILEDDN 2%, eau de javel 2%.

- Tout d'abord nous enlevons toutes les parties amovibles de la cuve, en applique un rinçage abondamment avec l'eau potable chaude, ensuite en passant au lavage par le produit actif ANIOSTERILE DDN 2% pendant 10 min. Cette première étape du procédé est pratiquée avec trois répétitions consécutives.
- Un rinçage est pratiqué abondamment avec de l'eau purifiée pour éliminer toutes traces de détergent.
- Finalement nous procédant à un soufflage avec de la vapeur pour toutes les parties de la cuve.
- Lorsque nous finissons le procédé de nettoyage, nous réinstallons toutes les parties de la cuve.

### IV. prélèvement des eaux de rinçage

Le prélèvement des eaux de rinçage est l'une des étapes clé pour l'évaluation de la qualité de l'eau. Il est donc essentiel que l'échantillonnage soit effectué avec prudence et technicité afin d'éviter toutes les sources possibles de contamination.

Les échantillons des eaux de rinçage pour les analyses physicochimiques et microbiologiques sont prélevés après chaque rinçage avec l'eau purifiée dans des flacons stérile en verre d'une capacité de 125 ml, figure 5.



Figure 5: Le prélèvement de l'eau de rinçage

### V. Méthodes analytiques

#### V.1. Analyses physicochimique des eaux de rinçages

Dans le contrôle physicochimique des eaux de rinçages nous avons procédé à des analyses en suivant deux types d'approches : l'une qui est spécifiques, l'autre globale (non spécifiques), utilisées dans la recherche des contaminants, principe actif, excipient.

Il faut signaler que dans l'usine BIOGALENIC, les tests physicochimiques cités ci-dessous sont décrits, selon les normes de la pharmacopée européenne édition 9.

La pharmacopée européenne est un ouvrage règlementaire, destinée à être utilisée par les Professionnels de la santé et constitue un instrument unique dans le domaine de la qualité et du contrôle des médicaments en Europe. La pharmacopée européenne définit les critères de Pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments Et les méthodes d'analyse utilisées pour en assurer leur contrôle.

### V.1.1.Méthode globale (non Spécifiques) d'analyses physicochimiques

#### V.1.1.1 Caractère

On Vérifie l'aspect, la couleur et l'odeur des eaux de rinçage qui doivent être limpide, incolore, et sans odeur.

#### V.1.1.2 Mesure du pH de l'eau de rinçage

Les mesures du pH sont réalisées avec un pH mètre « CONSORT ».

**Critère d'acceptation :** pH 5 à 7.

#### V.1.1.3 Mesure de conductivité

La conductivité électrique est mesurée à l'aide d'un conductimètre modèle (HANA EDGE).

Un étalonnage régulier de l'appareil est systématiquement pratiqué.

L'eau de rinçage satisfait aux exigences si la conductivité mesurée à la température enregistrée n'est pas supérieure à la valeur indiquée dans le tableau 3 suivant :

**Tableau 5: Normes de la conductivité selon la température**

Température (°C)	Conductivité ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )
0	2.4
10	3.6
15	4.3
20	5.1
25	5.4
30	6.5
40	7.1
50	8.1
60	9.1
70	9.7
80	9.7
90	9.7
100	10.2

Pour les températures ne figurant pas dans le tableau précédent, on calcule la conductivité maximale admise par interpolation entre les valeurs immédiatement inférieure et supérieure du tableau.

**Critères d'acceptation :** conductivité  $4,3\mu\text{s}/\text{cm}$  à  $20\text{ }^\circ\text{C}$ .



### V.1.1.4 Recherche des substances oxydantes

La recherche de substances oxydantes témoigne d'une contamination chimique, elle est liée à la présence de détergents à la suite d'un nettoyage de la cuve, on porte à ébullition pendant 5 min un mélange de 100 ml d'eau de rinçage, additionné de 10 ml d'acide sulfurique dilué (R, voir composition chimique en annexe), et de 0,1 ml de permanganate de potassium 0,02 M.

**Critère d'acceptation :** la solution doit être rose justifiant l'absence de substances oxydantes.

### V.1.1.5 Spectrophotométrie UV-Visible.

A l'aide d'un spectrophotomètre double faisceau, un balayage est effectué 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 pur. Le spectrophotomètre utilisé pour l'étude est de type (HITACHI U2001).

## V.1.2. Méthode spécifique d'analyses physicochimiques

### V.1.2.1 Recherche des traces du principe actif par chromatographie liquide de haute performance HPLC

La méthode d'analyse utilisée pour la recherche des traces de Principe actif (oxymétasolin HCL), du médicament « RESPINHAL » est la méthode de routine dans l'industrie pharmaceutique : chromatographie liquide de haute performance (HPLC). L'appareil utilisé (VWR HITACHI 5410), figure 6.

En utilisant l'eau purifiée comme témoin pour une lecture rapide et un standard du principe actif pour quantifier les traces.



**Figure 6 : Appareil HPLC de marque VWR HITACHI 5410**

## Mode opératoire

- **Préparation de phase mobile**

Nous essayons de faire un travail d'optimisation de la phase mobile appropriée pour le produit à rechercher.

La phase mobile contient : 250 ml d'Acétonitril à 20% et une solution tampon à 80% contenant l'ammonium acétate à pH 5 et avec conductivité égale 1.33  $\mu\text{s}/\text{cm}$ .

La phase mobile est filtrée rigoureusement sous vide sur une membrane de filtration de diamètre 0.45  $\mu\text{m}$ .

- **La phase stationnaire** La phase stationnaire est la colonne (ZORBAX ECLIPSE PLUS C18) de (250 mm/4.6 mm), figure 7.



**Figure : 7. La phase stationnaire est la colonne (ZORBAX ECLIPSE PLUS C18)**

Les conditions expérimentales de la chromatographie sont les suivantes :

1. Mode isocratique.
2. La détection : 232nm
3. Débit : 1.5 ml/min
4. Volume d'injection : 20 $\mu\text{l}$

## V.2. Contrôles microbiologiques des eaux

Ces contrôles ont pour objectif de garantir la qualité microbiologique des eaux qui rentrent dans les procédés de nettoyages et traitements de la cuve (eau potable, eau purifiée, et eau de rinçage), ces tests microbiologiques vont nous permettre de garantir l'absence de germes pathogènes

L'examen microbiologique sur les différents échantillons d'eaux après les opérations de nettoyage est décrit, selon les normes de la pharmacopée européenne 8<sup>ème</sup> édition).

### V.2.1. Prélèvement d'échantillons d'eaux

Les échantillons doivent être prélevés dans l'asepsie totale dans des flacons stérile d'une capacité de 125 ml. Le tableau 3 résume le plan de prélèvement effectué.

Tableau 6 : Plan de prélèvement de l'eau pour l'analyse microbiologique

Point de prélèvement	l'échantillon	Dates de prélèvements		
		1er essai	2ème essai	3ème essai
Robinet d'eau potable de la station de purification	Eau potable	25 mars 2018		
Cuve de stockage d'eau purifiée de la station de purification	Eau purifiée	25 mars 2018	25 mars 2018	
Cuve de mélange (transfère).	Eau de rinçage	20 mars 2018	28 mars 2018	01 avril 2018

### V.2.2. Recherche des contaminants microbiens dans les eaux purifiée et potable de la station de purification

#### V.2.2.1. Filtration sur membrane

La filtration sur membrane est une technique qui utilise une barrière physique, c'est à dire une membrane poreuse ou un filtre, pour séparer des particules dans un liquide. Les particules sont séparées selon leur taille et leur forme sous l'effet de la pression à travers des membranes munies de pores de différentes tailles, voir figure 8.



**.Figure 8: Rampe de filtration sur membrane**

Les bactéries présentes dans l'échantillon à analyser sont retenues sur un filtre dont les pores sont inférieurs à la taille des bactéries (pore de  $0,45\ \mu$  de diamètre). Le filtre qui a retenu les bactéries contenues dans l'eau, est ensuite déposé sur un milieu de culture approprié où les bactéries puisent les éléments nécessaires à sa croissance et se développent (nous utilisons pour cette étude le milieu R2A (voir composition chimique en annexes).

La gélose R2A (Reasoner's 2A) est un milieu destiné au dénombrement des microorganismes aérobies viables totaux dans les eaux traitées telles que les eaux purifiées, hautement purifiées et les eaux pour préparation injectables.

Le milieu R2A est conforme à la formule décrite dans la Pharmacopée Européenne .

L'incubation des boîtes de pétri inversées s'est faite à une température entre  $30$  et  $35^{\circ}\text{C}$  pendant 5 jours.

Après incubation, les UFC (unités formants colonies) sont comptées pour évaluer la qualité microbiologique de l'eau.

## V.2.3. Examen microbiologique de l'eau de rinçage

### V.2.3.1. Milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisées durant cette étude sont :

1. Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (TSB).
  2. Milieu gélose aux peptones de caséine et de soja (TSA).
  3. Milieu liquide Sabouraud dextrose.
  4. Milieu Sabouraud dextrose-gélose.
  5. Milieu liquide de MacConkey.
  6. Milieu gélosé de MacConkey.
  7. Milieu Chapman.
  8. Milieu gélose-cétrimide
  9. Milieu liquide d'enrichissement Rappaport-Vassiliadis.
  10. Milieu gélose xylose-lysine-désoxycholate (XLD).
  11. Milieu d'enrichissement Mossel.
  12. Milieu gélose a la bile-violet-rouge avec glucose(VRBG).
- En utilise comme un diluant le tampon péptonée au chlorure de sodium (TSE) PH=7, 0.

### V.2.3.2. Préparation des dilutions

#### La dilution $10^{-1}$

Homogénéisée l'échantillon de l'eau de rinçage ; par une pipette de 10ml nous mettons 10ml de l'eau de rinçage dans 100 ml de TSE (tampon péptonée au chlorure de sodium) ; puis homogénéisé bien pour obtenir la dilution de  $10^{-1}$ .

### V.2.3.3. Procédures d'examen

**Remarque :** Nous avons procédés à trois séries d'analyses sur les eaux de rinçages (trois répétitions).

## **Recherche d'*Escherichia coli***

### **Préparation de l'échantillon et pré- incubation**

- Préparer l'échantillon comme décrit précédemment, en utilisant une dilution au 1/10 (Préparation de la dilution).
- Ensemencer 100 ml du bouillon (TSB) avec 10ml d'échantillon d'eau.
- Homogénéiser, puis incuber a une température de 35°C pendant 18-24 heures.

### **\_ Sélection et subculture**

- Agiter le récipient, puis transférer 1ml du milieu liquide aux peptones de caséine et De soja (TSB) dans 100 ml de milieu liquide de MacConkey et incuber a 43°C Pendant 18-72 heures.
- Effectuez ensuite des subcultures sur le milieu gélose MacConkeyet incubez a 35 °C pendant 72 heures.

## **Recherche de *Pseudomonas aeruginosa***

Prélever 10 ml du même échantillon préparé précédemment (dilution 1/10) et ensemencer 100ml de milieu liquide aux peptones de caséine de soja (TSB), et homogénéiser bien ensuite, incuber a 35°C durant 18-24 h.

Après incubation, repiquer sur milieu gélosé-cétrimide, enfin, incuber a 35°C durant 18-72 h.

## **Recherche de *Staphylococcus aureus***

Avec une pipette stérile, prélever 10ml du même échantillon préparé précédemment (dilution 10<sup>-1</sup>) et ensemencer 100ml de milieu liquide aux peptones de caséine de soja et homogénéiser bien par le vortex ensuite, incuber à 35°C durant 18-24 h.

Après l'incubation, repiquer sur milieu mannitol-sel, enfin, incuber a 35°C durant 18-72 h.

## **Recherche des *Salmonelles***

Avec une pipette stérile, prélever 10ml de l'échantillon de l'eau de rinçage (non diluer) et l'introduire dans 100ml de milieu liquide aux peptones de caséine de soja (TSB), puis mélanger ,et incuber dans une étuve réglée à 35°C durant 18 à 24h.

Après l'incubation, transférer 0.1ml dans 10ml de milieu liquide d'enrichissement pour les salmonelles (Rappaport- vassiliadis).ensuit, incuber à 35°C durant 18 à 24h.

Enfin, après l'incubation, repiquer sur milieu gélosé xylose-désoxycholate (XLD), et incuber à 35°C durant 18-48 h.

### **Recherche des *Candida albicans***

Prélever 10ml l'échantillon diluer  $10^{-1}$  et introduire dans 100ml de milieu liquide Sabouraud avec une pipette stérile, et homogénéiser bien par le vortex ensuite, incuber à 35°C durant 3 à 5 jours. Après l'incubation, repiquer sur milieu gélosé Sabouraud, et incuber à 35°C durant 24 à 48 h.

### **Recherche de bactéries gram négatives résistantes aux sels biliaires**

A l'aide d'une pipette stérile, prélever 10ml de l'échantillon de l'eau de rinçage (non diluer) et l'introduire dans 100ml de milieu liquide aux peptones de caséine de soja (TSB). Après homogénéisation, cette solution est incubée à 25°C pendant 2 à 5h pour assurer la revivification des bactéries gram négatives résistantes aux sels biliaires, mais ceci est insuffisant pour permettre leur multiplication. Par la suite, transféré aseptiquement 1ml de l'inoculum dans le milieu d'enrichissement pour les entérobactéries-Mossel et incubé à 35°C pendant 24 à 48h. A la fin d'incubation, réaliser avec une anse de platine un repiquage sur le milieu gélosé à la bile-violet-rouge avec glucose ou (VIOLET RED BILE GLUCOSE, VRBG), puis une incubation à 30 à 35°C durant 18 à 24h.

### **Critères d'acceptation**

#### **Recherche de contaminants microbiologiques des eaux purifiées**

La Pharmacopée européenne 8<sup>ème</sup> édition recommande que le nombre des germes mésophiles aérobies viables soit inférieur à 100 UFC/ml.

**TROISIÈME PARTIE :**

**RÉSULTATS ET**

**DISCUSSION**



## RESULTATS ET DISCUSSION

### I. Les analyses physicochimiques

#### I.1. Caractères des eaux de rinçages

Les résultats montrent que les eaux de rinçages sont limpide, incolore, et sans odeur.

#### I.2. Résultats de la Conductivité, le pH et la Température

Les résultats de quelques méthodes globales (conductivité, pH, température) sont résumés dans les tableaux 5 et 6.

Tableau 7: Résultats de la conductivité de l'eau purifiée et l'eau de rinçage.

Analyse Résultats	CONDUCTIVITE ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )		TEMPERATURE ( $^{\circ}\text{C}$ )	
	L'eau purifiée	L'eau de rinçage	L'eau purifiée	L'eau de rinçage
1 <sup>er</sup> résultat	2,82	3,11	23	23
2 <sup>ème</sup> résultat	2,99	2,21	25	25
3 <sup>ème</sup> résultat	3,49	2,13	20	20

Les résultats montrent que les valeurs de la conductivité des eaux de rinçage et l'eau purifiée sont inférieures de  $4,3\mu\text{s}/\text{cm}$  à  $20^{\circ}\text{C}$ , ce qui est en harmonie avec les critères d'acceptation de la pharmacopée européenne ; donc d'une manière générale les résultats sont conformes aux normes.

Tableau 8 : Résultats du pH mètre.

PH	
L'Eau purifiée	L'eau de rinçage
6,10	5,44
5,90	5,70
6,80	5,90

Les résultats montrent que les valeurs du pH sont entre 5 et 7 et cela correspond aux critères d'acceptation.

### I.3. Substances oxydantes

La couleur rose légère observable dans la figure suivante 9, signifie que le test des substances oxydables est conforme selon la pharmacopée Européenne. La couleur rose est obtenue pendant toute la période du traitement, cela signifie que les eaux purifiées utilisées pour le nettoyage ne contiennent pas de substances oxydables.

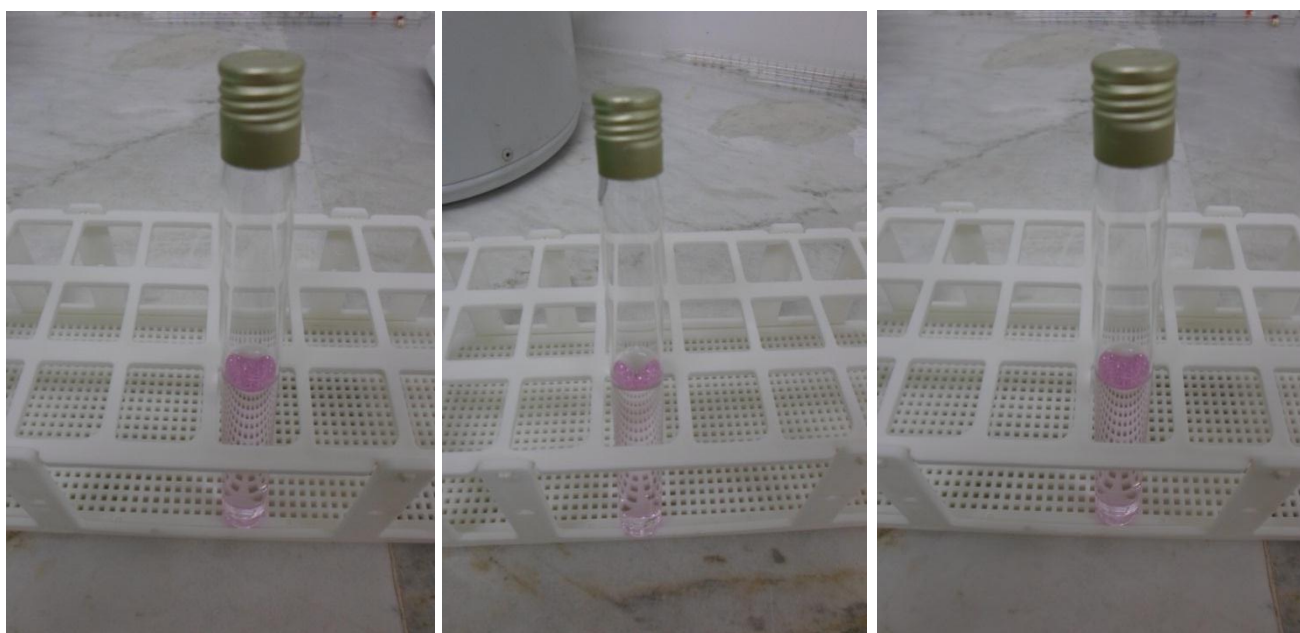
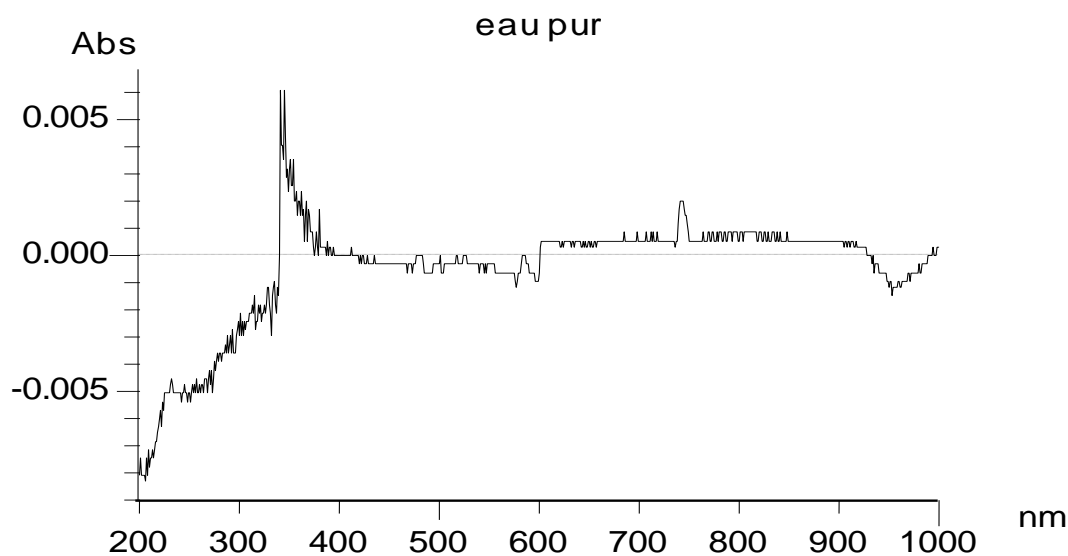


Figure 9 : Résultats de la recherche des substances oxydantes dans les eaux de rinçages.

### I.4. La spectrophotométrie UV - VIS

Les spectres suivants représentent les résultats obtenus de la spectroscopie UV-Visible :

La figure 10 montre le spectre d'absorption de l'eau pure dans le domaine de l'UV-VIS.



**Figure 10 : spectre UV-VIS de l'eau purifié**

La figure 11 montre le spectre d'absorption des eaux de rinçages dans le domaine de l'UV-VIS. On peut remarquer que le spectre ressemble au spectre de l'eau pure, ce qui démontre que les eaux de rinçages sont exemptes de toutes traces chimique du détergent ou du principe actif du médicament, parce que n'importent qu'elles contaminations des eaux de rinçages auront des répercussions et une traçabilité sur les spectres d'absorption dans les différents longueurs d'ondes du domaine UV-VIS. La figure 12 est la preuve des déclarations et interprétations citées en haut. Cela démontre une autre fois le succès des processus du nettoyage et la sécurité de la cuve après nettoyage.

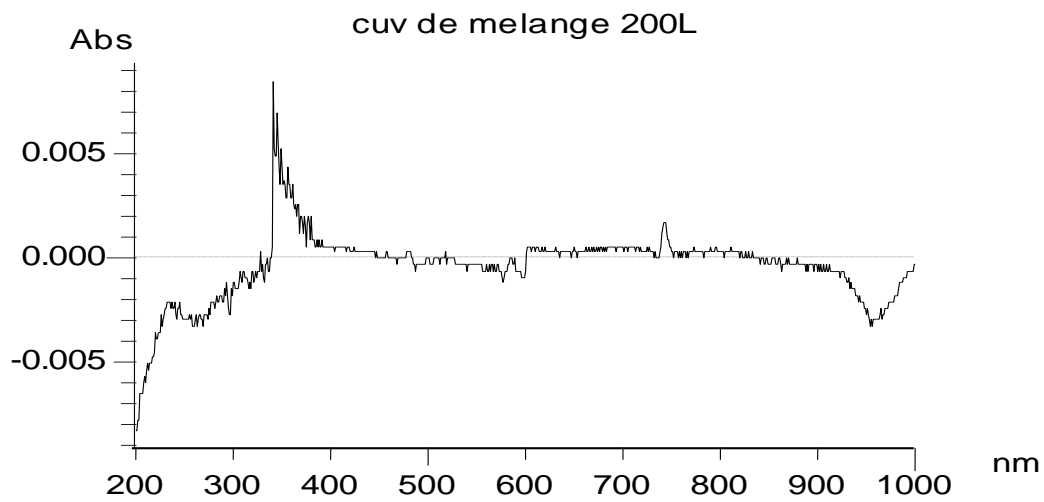


Figure 11 : spectre d'absorption de l'eau de rinçage

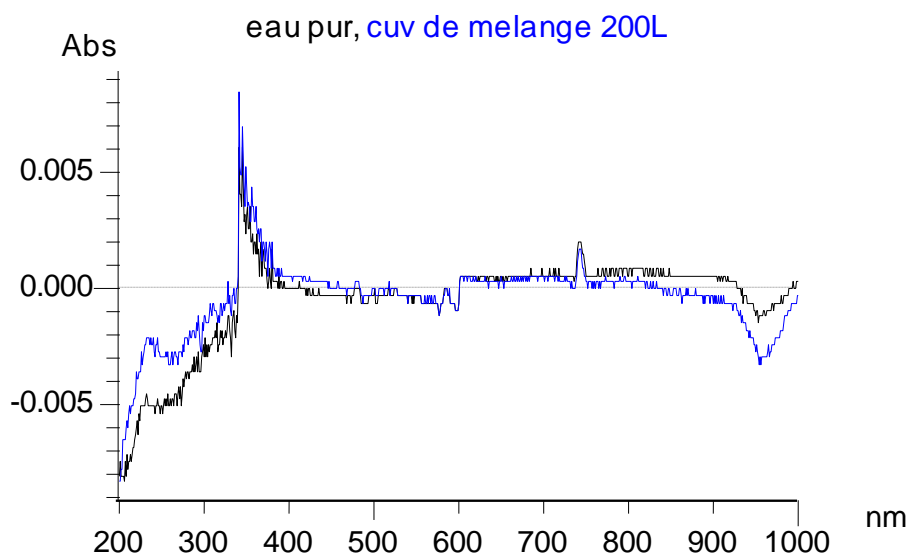


Figure 12: la comparaison du spectre d'absorption de l'eau pure et l'eau de rinçage.

Le tableau 8 récapitule les résultats de la spectrophotométrie UV-VIS.

Tableau 9 : Résultats de la conformité des eaux purifiée et des eaux de rinçage.

L'eau de rinçage	L'eau purifiée
1 <sup>er</sup> résultat	Conforme
2 <sup>ème</sup> résultat	Conforme
3 <sup>ème</sup> résultat	Conforme

### I.5. Chromatographie liquide de haute performance

En chromatographie liquide à haute performance, les résultats apparaissent sur le chromatogramme sous forme de pics, dont l'allure générale peut être représentée par les résultats suivant :

Le premier chromatogramme est représentatif de l'injection témoin relatif au principe actif du médicament à savoir : l'oxymetazoline, figure 13.

1<sup>er</sup> résultat :

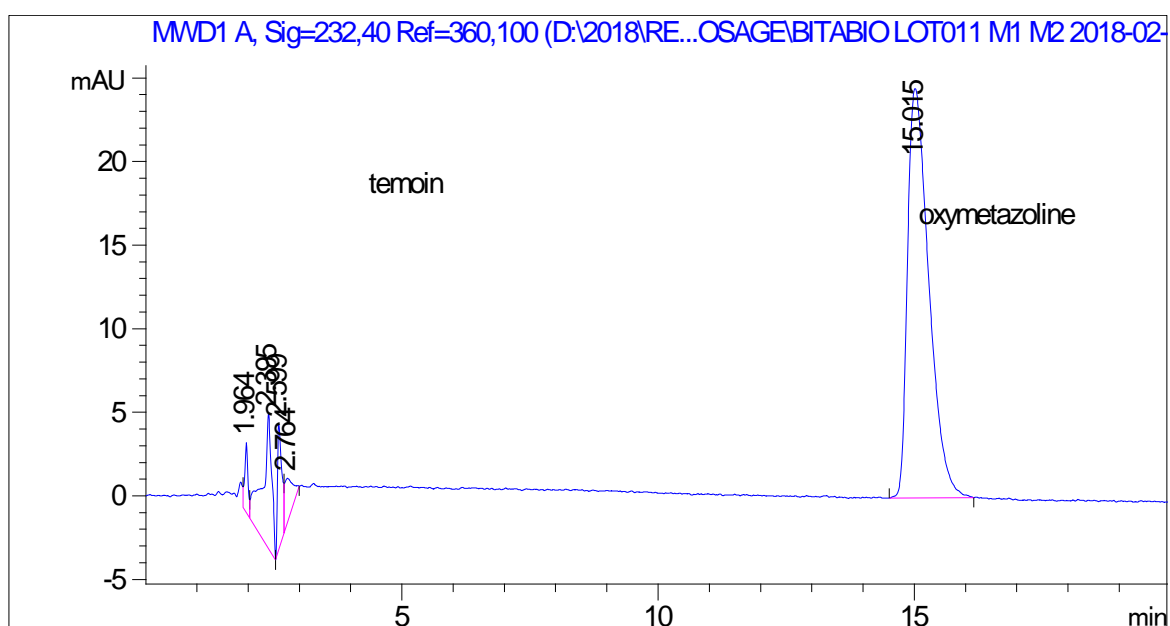
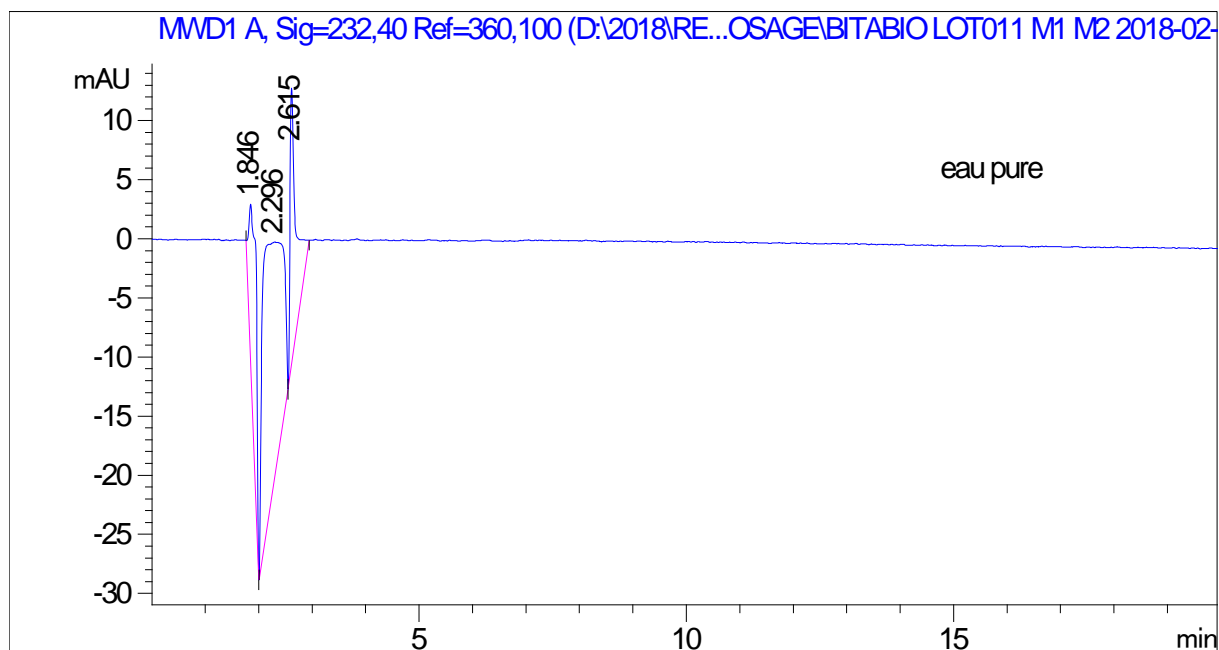


Figure: 13 chromatogramme du témoin (oxymétazoline)

Le deuxième chromatogramme, figure 14, est représentatif de l'eau pure ; aucune traces du principe actif n'est apparue sur le pic, c'est un résultat logique du moment où l'eau pure est censé être exempt de toute traces chimique et autres contaminants.

Le troisième chromatogramme, figure 15, qui concernent les eux de rinçages, on remarque l'absence du pic de l'oxymétazoline dans le temps de rétention:15,015 min : ce qui démontrent que le processus du nettoyage c'est bien déroulé et on est sure que le nettoyage est d'une efficacité remarquable puisque aucune traces du médicament n'est détecté. Donc ont est devant un résultat logique et en harmonie avec les normes et les directives concernant la contamination chimique.

Les résultats des 3 essais sont conforme.



**Figure: 14 chromatogramme de l'eau pure**

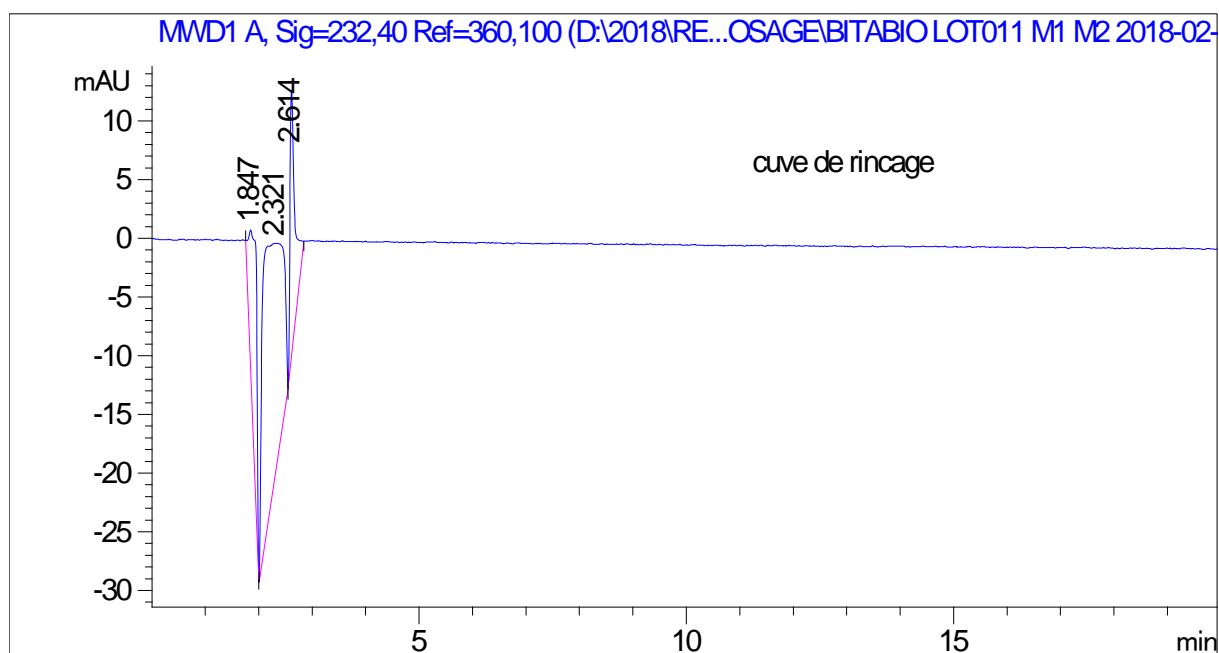


Figure: 15 chromatogramme de l'eau de rinçage

Un récapitulatif des résultats de l'HPLC est résumés dans le tableau 7.

Le résultat de l'essai (l'eau de rinçage)	Comparaison avec témoin	Comparaison avec eau purifiée
1 <sup>er</sup> résultat	Conforme	Conforme
2 <sup>ème</sup> résultat	Conforme	Conforme
3 <sup>ème</sup> résultat	Conforme	Conforme

Tableau 10 : Tableau de comparaison entre l'eau de rinçage et l'eau purifié avec témoin.

### II. Résultats des analyses microbiologiques

II.1. Recherche des contaminants microbiens dans les eaux purifiée et potable.

Après l'incubation du filtre dans une étuve réglé à 35 ° C pendant 5 jours, nous observons les résultats suivant figure 16.



**Figure 16 : Résultats après ensemencement sur milieu R2A.**



Tableau 11: Dénombrement en UFC, des trois échantillons d'eaux.

Origine du prélèvement	Point de prélèvement	Résultats (UFC/100ml)	interprétation
Eau potable	Robinet de l'eau potable de station de purification	02	Conforme
Eau purifiée N°1	Cuve stockage de l'eau purifiée de station de purification	01	Conforme
Eau purifiée N°2	Cuve stockage de l'eau purifiée de station de purification	00	Conforme

D'après les résultats obtenus de la filtration sur membrane de l'eau potable et l'eau purifiée de station de purification après lecture à l'aide d'un compteur de colonies, le nombre de colonies sur le filtre est inférieur à 100 UFC/ml, tableau 8. Donc, ces résultats répondent aux critères d'acceptations, et à partir de ça, la qualité microbiologique de l'eau potable et l'eau purifier est conforme.

### II.2. Examen microbiologique de l'eau de rinçage

Les résultats des examens microbiologiques lors du rinçage primaire (essai avant nettoyage), ont montré la présence de *Pseudomonas aeruginosa* sur le milieu sélectif spécifique : la présence de la bactérie est probablement liée à une humidité étroite des canalisations (cuve rincée n'est pas fonctionnelle). Figure 17.



Figure 17: Résultat de recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

## Résultats et discussion

Dans l'eau purifiée, les germes peuvent provenir des tuyaux de distributions ou d'une surveillance non rigoureuse (maintenance et régénération) des différentes machines de production d'eau purifiée qui conduit à la formation des biofilms (adhésion des microorganismes) : *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie dangereuse qui forme des biofilm et vue de sa capacité à former des biofilm elle est présente dans le milieu hospitalier et incriminer dans les infections multirésistantes.

Un récapitulatif des résultats des analyses microbiologiques des eaux de rinçages, après la finalisation du processus du nettoyage est illustré dans le tableau 9.

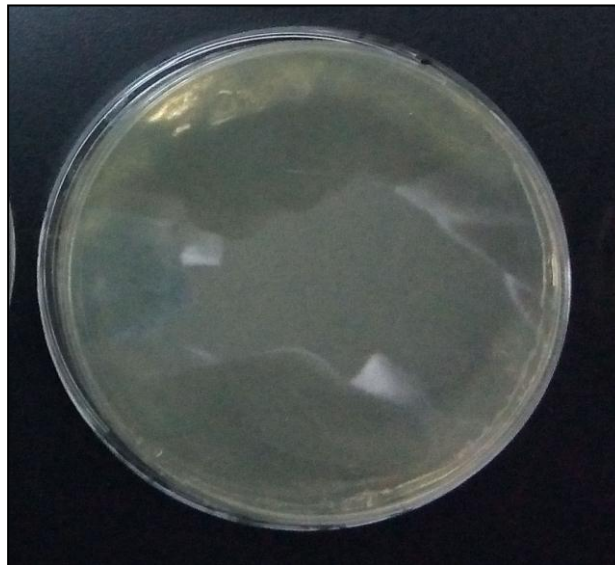
**Tableau 12: Résultats de l'examen microbiologique de l'eau de rinçage**

L'échantillon pris  Germes recherchés	Eau de rinçage 01	Eau de rinçage 02	Eau de rinçage 03
<i>E.coli</i>	Absence	Absence	Absence
<i>Saphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence
Salmonelles	Absence	Absence	Absence
<i>Candida albicans</i>	Absence	Absence	Absence
Bactéries gram négatives résistantes aux sels biliaires	Absence	Absence	Absence
DLMT (UFC/ml)	0	0	0
DGAT (UFC/ml)	0	0	1363

## Résultats et discussion

---

Au cours de cette étude, on n'a constaté des valeurs élevées lors du dénombrement des germes aérobies totaux (flore aérobie revivifiables), dans l'eau de rinçage N°3 : c'est un résultat alarmant puisqu'on a dépassé les 700 UFC/10ml (le seuil d'action), qui nécessite un traitement instantané de la station (chimique, thermique, à l'ozone...). On procède à une analyse de vérification sous une atmosphère stérile (PSM) : poste de sécurité microbiologique pour éviter la contamination externe et essayer de vérifier l'hypothèse d'une contamination externe. Le résultat obtenu est négatif comme le montre la figure 18.



**Figure 18: Résultat obtenu de la recherche des germes aérobies totaux de l'eau de rinçage n°03**

Suite au résultat constaté nous réalisons que la contamination survenue est due à une contamination et mauvaise hygiène durant la manipulation.



# *CONCLUSION*

### **Conclusion**

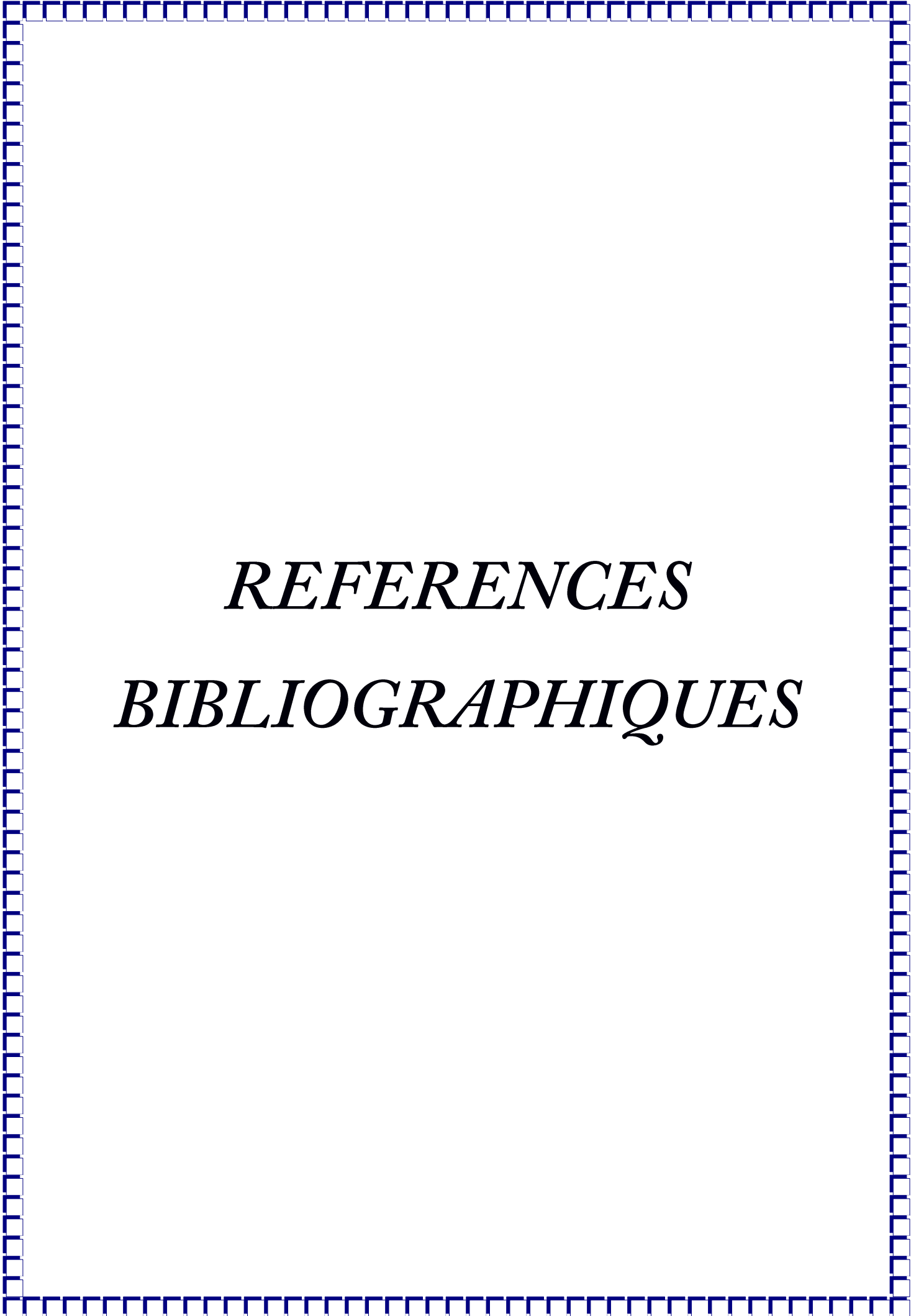
L'objectif principal de toute entreprise pharmaceutique est de garantir à ses clients des produits de qualité et de la sécurité requise pour leur emploi. La validation du nettoyage est une opération très importante dans l'industrie pharmaceutique pour assurer une meilleure qualité du produit.

Dans ce travail, nous avons effectué plusieurs analyses physico-chimiques et microbiologiques au niveau de l'industrie pharmaceutique BIOGALINIC, pour valider un procédé de nettoyage d'une cuve de mélange forme liquide, en se référant principalement à la pharmacopée européenne 8<sup>ème</sup> édition et la monographie interne de la société.

Les résultats de nos analyses microbiologiques de l'eau de rinçage nous montrent une absence totale des contaminants microbiologiques (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonelles*, *Candida albicans*, ...), les résultats des analyses physico-chimiques qui ont démontré l'absence de polluants chimique (détergent ou le principe actif du médicament), et si elles existent, elles sont de très faibles concentrations.

Les résultats obtenus montrent que les analyses effectuées sur l'eau de rinçage de la cuve de mélange 'forme liquide' sont conforme aux critères d'acceptation et ce pour tous les essais.

Sur la base des résultats obtenus, nous pouvons dire que le procédé utilisé pour nettoyer la cuve a été validé et peut être utilisée ultérieurement dans les laboratoires de BIOGALINC.



*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

### **Références bibliographiques**

[1] **Aiache JM, Aiache S et Rennoux R, (1995)**. Initiation à la connaissance des médicaments, Masson, Paris, 2<sup>e</sup> édition, p.24.

[2] **Baricault A, (2014)**. «Validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : cas pratique d'un projet de changement d'agent de nettoyage». Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur d'état en pharmacie. Université de Bordeaux 2, P : 20-23-25.

[3] **Bolzan C, 2008**. « La validation de nettoyage en industrie pharmaceutique : validation des prérequis, principe et application au cas particulier d'une centrale de pesées». Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur d'état en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, P : 48-104.

[4] **Bonne pratique de laboratoire**. <http://www.lncpp.dz>.

[5] **Bounias.M, (1983)**. « L'analyse biochimique quantitative par nano-chromatographie en couche mince – Masson, disponible sur : [http://www.sciences-en-ligne.com/DIST/Data/Ressources/lic2/chimie/chi\\_exp/chromatographie/chromato\\_couch\\_min ce.htm](http://www.sciences-en-ligne.com/DIST/Data/Ressources/lic2/chimie/chi_exp/chromatographie/chromato_couch_min ce.htm)

[6] **Conte L, (2003)**. «Validation des procédés de nettoyage : application à un cas concret dans l'industrie pharmaceutique». Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur d'état en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, P : 10.

[7] **Emaille C, (2003)**. «Qualification d'une ligne de conditionnement.». Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur d'état en pharmacie, Université de Nantes, P : 10-43.

[8] **Gavrilovic M.M, Schwartz H.G.C et Walach J, (1996)**. « Manipulation d'analyse biochimique », 3<sup>ème</sup> Edition, Doin Editeur, Genève, pp : 59-354.

[9] Good manufacturing practice for medicinal products in the European Community. Bruxelles, Commission des Communautés européennes, 1992.

## *Références Bibliographiques*

---

[10] **Gouraud A, (2012)**. Cours « Généralité sur la pharmacologie et les p : 8. <http://www.ecole-rockefeller.com>.

[11] **Hanane G, (2015)**. « Etude comparative de deux médicaments, Motilium et Nauseidum : Etude qualitative et statistique », Mémoire de Master en génie des procédés, Université Djilali Bounaâma - Khemis Miliana, p: 11-12.

[12] <http://www.ultraproprete.com>

[13] **Kuevidjin K, (2017)**. « Analyse des risques qualité en industrie pharmaceutique : application à la validation du nettoyage d'un équipement », Université de Mohammed V - Rabat, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, p : 2.

[14] **Laban F, Cauwet M, Champault V, (1996)**. « Validation des procédés de nettoyage, Rapport de la commission SFSTP STP Pharma Pratiques » : 6 (1) 5-40.

[15] **Laban F, Cauwet M, Champault V, Dampfhofter P.R, Delestre E, Detoc S, et al, (1996)**. « Validation des procédés de nettoyage : Rapport d'une commission » SFSTP, S.T.P. Pharma pratiques : 6 (1) 5-40.

[16] **Lamouille E, (2004)**. « De la mise au point à la validation de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Clermont I.

[17] **Ledoux C, (2014)**. « Analyse de risques appliquée à la validation du nettoyage des équipements de fabrication de médicaments aérosols ». Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur d'état en pharmacie, Université de Rouen pp : 24-25-26-53.

[18] **LEVEAU Jean-Yves, BOUIX Marielle, (1999)**. « **Nettoyage, Désinfection Et Hygiène Dans Les Bioindustries** ». Coll. **Sciences et techniques agroalimentaires**.

[19] **Meyer R et Denier C, (1996)**. « Spectroscopie pratique dans le domaine du visible et de l'ultraviolet » - *Bull. Un. Phys.*, 784, p. 895-908.

[20] **Ministère de l'Industrie, de la Petite et Moyenne Entreprise, (2011)**. Rapports sectoriels, « L'industrie pharmaceutique, Etat des lieux, enjeux et tendances lourdes dans le monde et en Algérie ».



## *Références Bibliographiques*

---

[21] **Ministère du travail, de l'emploi et de la santé, (2014)**. « Bonnes Pratiques de Fabrication », France, N°2014/1bis. P : 71.

[22] **Mourna H, (2010)**. «Validation de nettoyage des équipements de production des formes pâteuse ». Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur d'état en pharmacie. Université Mohammed 5- Rabat. P : 2-22-27.

[23] **Orphee Z, (2008)**. « Contrôle analytique des médicaments à base d'albendazole et de Mébendazole vendus en République de Guinée - cas de la ville de Conakry », thèse de doctorat de pharmacie Université de Ghinia, p : 13.

[24] **Paul B, (2018)**. « *Notions essentielles de chimie analytique*. Chromatographie en phase liquide à haute Performance (CLHP) ».Purdue Université,USA, disponible sur :

[25] **Petra Pütz, (2003)**. Rapport d'application analyse de laboratoire paramètres composites COT Utilisation des produits de laboratoire HACH LANGE. Pages 2

[26] **Sliwinski F, (1995)**. « Le nettoyage, un élément majeur de l'assurance qualité : techniques et validation », Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lille.

[27] **Talbert M, Willoquet G et Labayle D, (2001)**. « Guide pharmaco », Edition

[28] **Tréhel C, (2015)**. «Gestion du risque de contamination croisée en industrie pharmaceutique». Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur d'état en pharmacie,Université de Bordeaux, p : 11.

[29] **Umber.J, (1998)**. « Cours de chromatographie en phase gazeuse de », professeur au lycée Louis Vincent. P: 13.

[30] Validation of analytical procedures used in the examination of pharmaceutical materials. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty second report. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1992, annexe 5 (OMS, Série de Rapports techniques, N° 823).

# *ANNEXES*

**ANNEXES**

**Annexe 1 : des définitions.....**

**Annexe 2 : Le milieu gélosé R2A .....**

**Annexe 3 : recherche de traces d'aniosteril ddn dans les eaux de rinçage.....**

**Annexe 4 : Annexe : Fiche technique de l'ANIOSTERIL DDN .....**

**Annexe 5 : résultat de l'HPLC.....**

**Annexe 6 : résultat de spectroscopie UV/VISIBLE .....**

**Annexe 7 : Composants de milieux de culture recommandés.....**

## **Annexe 1 : des définitions**

### **Eau purifiée**

Eau destinée à la préparation de médicaments autres que ceux qui doivent être stériles et exempts de pyrogènes, sauf exception justifiée et autorisée.

### **Eau purifiée en vrac**

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

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

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

### **Validation :**

Etablissement de la preuve, en conformité avec les principes de bonnes pratiques de fabrication, que la mise en oeuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés .

### **Validation du procédé :**

Preuve documentée que le procédé, exploité dans le cadre de paramètres établis, est en mesure de fonctionner de manière efficace et reproductible en vue de produire un médicament conforme à ses spécifications et à ses attributs qualitatifs prédéfinis.

### **Nettoyage :**

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

### **Validation du nettoyage :**

Preuve documentée qu'une procédure de nettoyage approuvée fournira des équipements adaptés à la fabrication de médicaments.

## **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.

## **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.

## **Formule**

Extrait de levure : 0.5 g

Peptone protéose : 0.5 g

Hydrolysate de caséine : 0.5 g

Glucose : 0.5 g

Amidon : 0.5 g

Phosphate dipotassique : 0.3 g

Sulfate de magnésium anhydre : 0.024 g

Pyruvate de sodium : 0.3 g

Gélose : 15.0 g

Eau purifiée : qsp 1000 ml

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

## **Conservation**

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

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

## **Préparation**

1. Mettre en suspension 18,1 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
2. Répartir en tubes ou flacons.
3. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

## Annexe 3: recherche de traces d'aniosteril ddn dans les eaux de rinçage

### PRINCIPE

Recherche de traces d'amine tertiaire en milieu biphasique et en présence d'une solution de bleu de bromophénol tamponnée utilisée comme indicateur.

### REACTIFS

**Indicateur coloré Réactif n°8** : solution de Bleu de Bromophénol tamponnée à pH 5.6.

Peser : 2350g d'eau distillée

245.8g d'acétate de sodium (Ref27650 VWR)

0.05g de Bleu de Bromophénol (Ref 11439-1 SIGMA

ALDRICH) 21g d'acide acétique glacial (Ref AC0352

SCHARLAU)

Mélanger jusqu'à totale dissolution et vérifier que le pH est égal à 5.6.

**Chloroforme pour analyses (Ref 22711 3214 VWR)**

### MATERIEL

- Tubes à essais (16 x 160 mm).
- Pipettes graduées de 2 ml et 10 ml.
- Pipettes pasteur (verre).

**MODE OPERATOIRE**

<b>TUBES</b>	<b>A : TEMOIN</b>	<b>B : ECHANTILLON</b>	<b>C : ETALON</b>
Chloroforme	2 mL	2 mL	2 mL
Réactif n°8	1 mL	1 mL	1 mL
Eau distillée	10 ml	0 ml	0 ml
Eau de rinçage	0 ml	10 ml	0 ml
ANIOSTERIL DDN à 0,2%	0 ml	0 ml	10 ml

Bien agiter les tubes et laisser reposer les tubes.

**RESULTATS**

L'observation des tubes doit être faite sur fond blanc et par rapport au témoin.

<b>TUBES</b>	<b>A</b>	<b>C</b>
Coloration phase supérieure	Violette	Gris
Coloration phase inférieure	Aucune	Bleue
Anneau d'émulsion (plus ou moins visible selon la concentration en ANIOSTERIL DDN)	aucun	Gris-bleu

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

**SEUIL DE DETECTION**

4 ppm de matière active = 222 ppm d'ANIOSTERIL DDN

## Annexe 4: Fiche technique de l'ANIOSTERIL DDN :



### NETTOYAGE ET DÉSINFECTION DES SURFACES ET DU MATÉRIEL

#### INDICATIONS

Nettoyage et désinfection des surfaces et du matériel.

Conforme à l'arrêté français du 8 Septembre 1999 concernant les produits de nettoyage pour le matériel pouvant entrer en contact avec les denrées alimentaires.

#### MODE D'EMPLOI

Solution concentrée. S'utilise à la dilution de 2%, soit 200 ml ou 8 pressions de pompe\* pour 10 litres d'eau chaude ou froide) en respectant le temps de contact indiqué. Appliquer en quantité suffisante (+/- 30 ml/m<sup>2</sup>). Rincer à l'eau potable après usage.

Pour la fréquence d'utilisation et le nettoyage du matériel d'application, se référer au plan d'hygiène en place.

\*1 pression de pompe = 25 ml





# ANIOSTERIL DDN

## COMPOSITION

N-(3-aminopropyl)-N-dodécylpropane-1,3-diamine (N°CAS 2372-82-9 : 18 mg/g), excipients.

## DONNÉES PHYSICO-CHIMIQUES

- Solution limpide incolore
- Densité à +20°C : env. 1.06
- pH du produit pur : env. 10.9

## PROPRIÉTÉS MICROBIOLOGIQUES

Bactéricide en 5 min, 2%, 20°C (EN 1040, EN 1276, NF T 72-171, T 72-300).

Homologué en traitement bactéricide à la dose de 2% sous le N° 9300429.

**POV** : locaux et matériel de stockage, parois des locaux de stockage, matériel de transport.

**POA** : locaux de stockage, matériel de transport, matériel de laiterie.

**Animaux domestiques** : locaux de préparation et matériel de transport de la nourriture.

## PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

Dangereux - respectez les précautions d'emploi (établies selon les règles européennes en vigueur en matière de classification et d'étiquetage des produits chimiques). Utilisez les biocides avec précaution. Avant toute utilisation, lisez l'étiquette et les informations concernant le produit.

Stocker entre +5°C et +35°C.

Désinfectant pour les surfaces en contact avec les denrées alimentaires (Groupe 1 – TP4) - usage réservé aux professionnels.

## CONDITIONNEMENTS

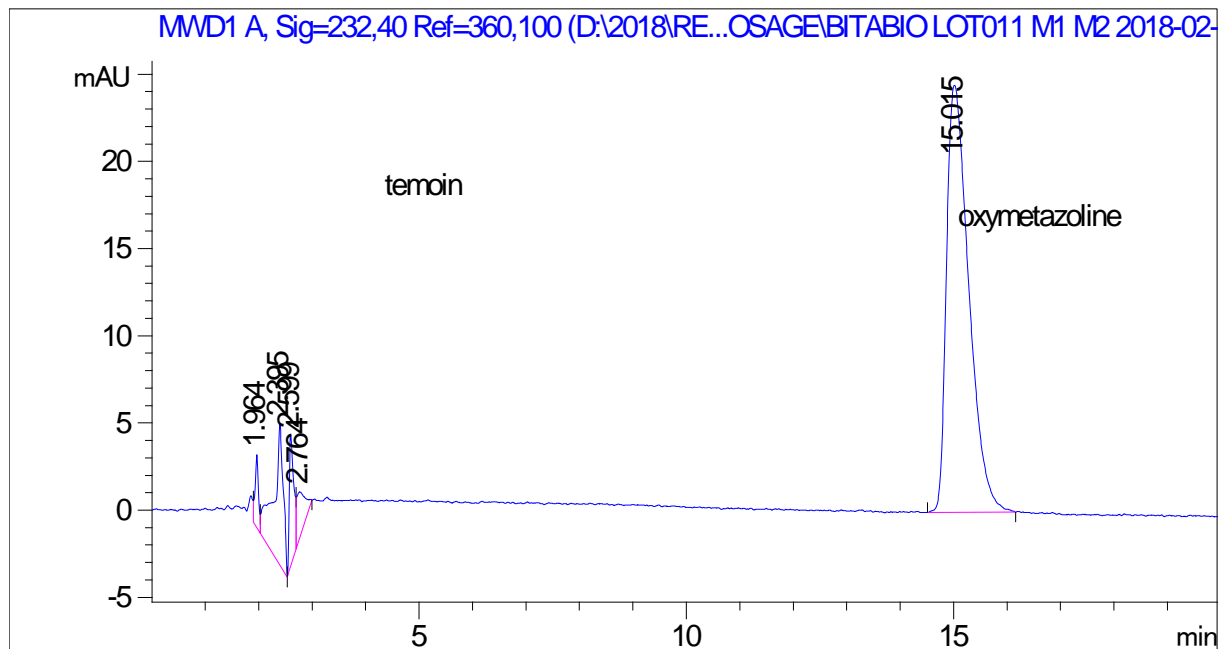
4 bidons de 5 kg : 1243.028

Bidon de 25 kg : 1243.547

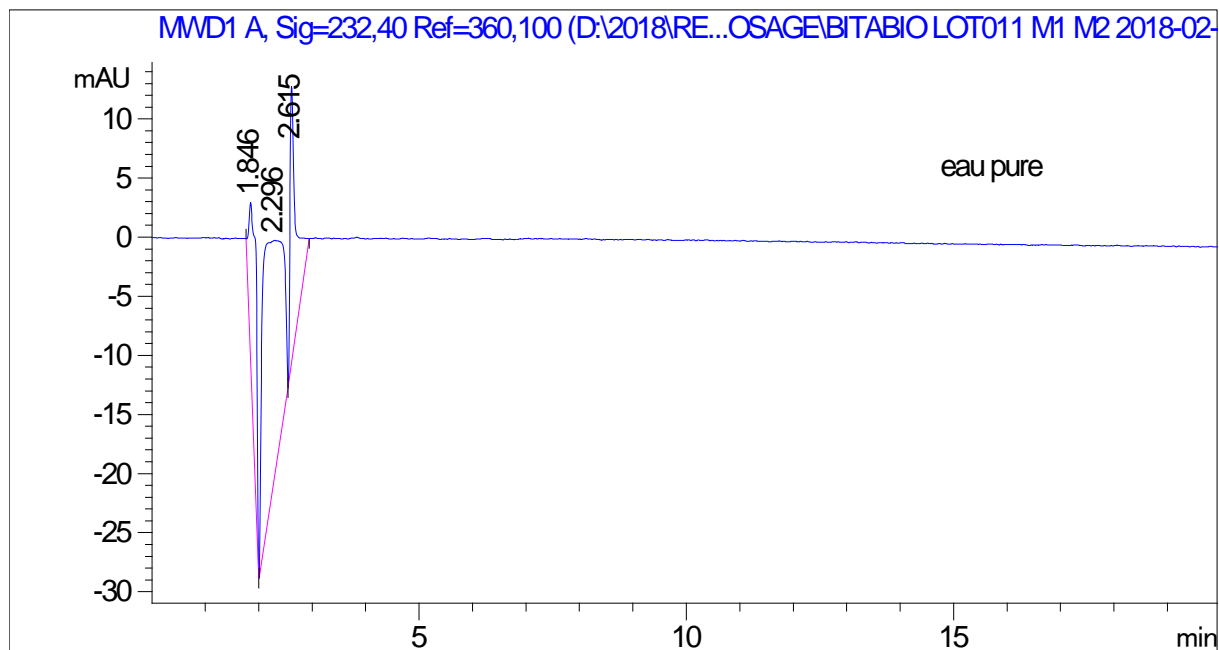
Fût de 200 kg : 1243.005

Container de 1000 kg : 1243.004

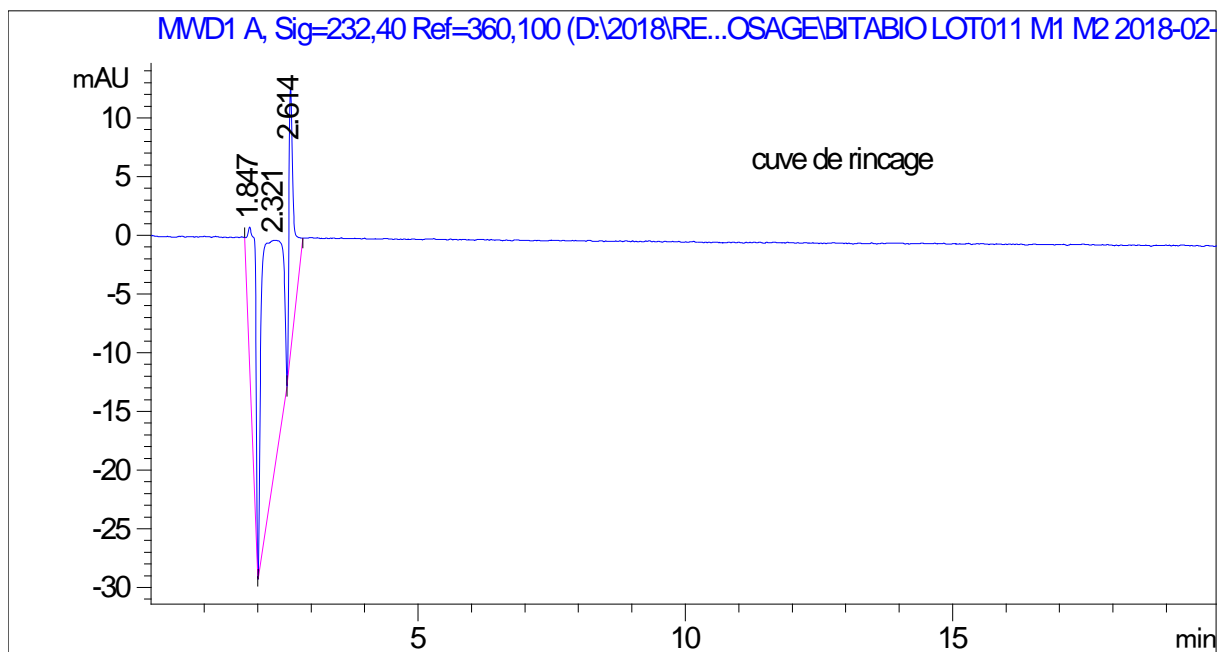
## Annexe 5: résultat de l'HPLC

La 2<sup>ème</sup> résultat de l'HPLC :

Chromatogramme du témoin (oxymétazoline)

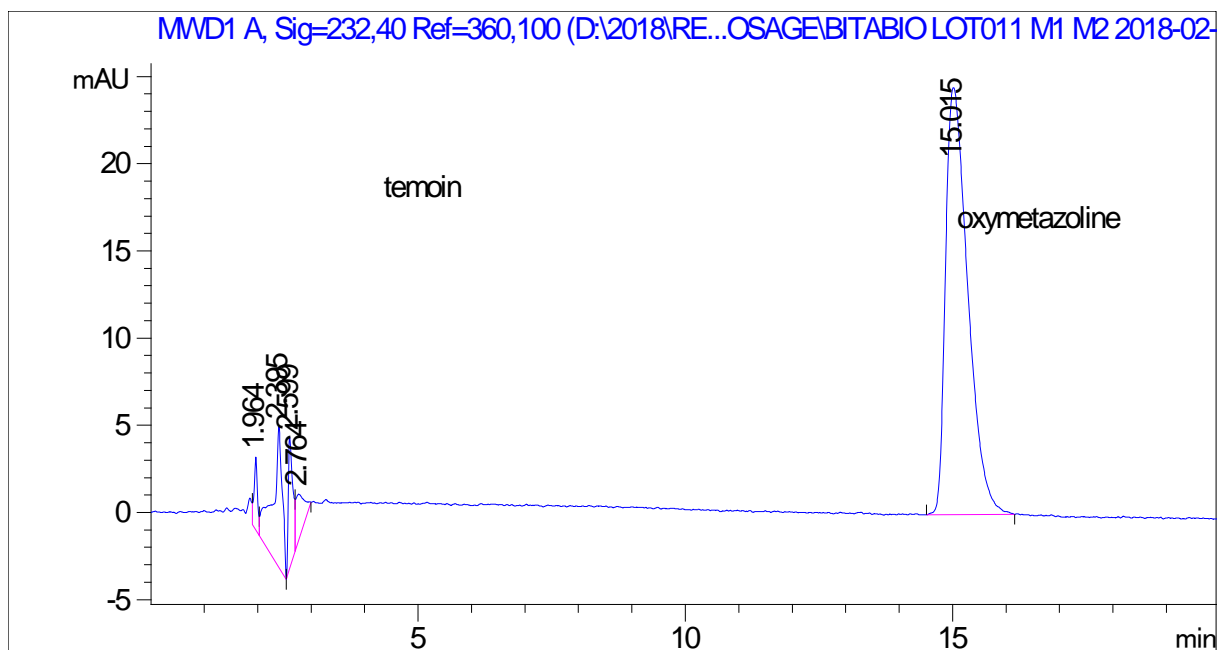


Chromatogramme de l'eau pure

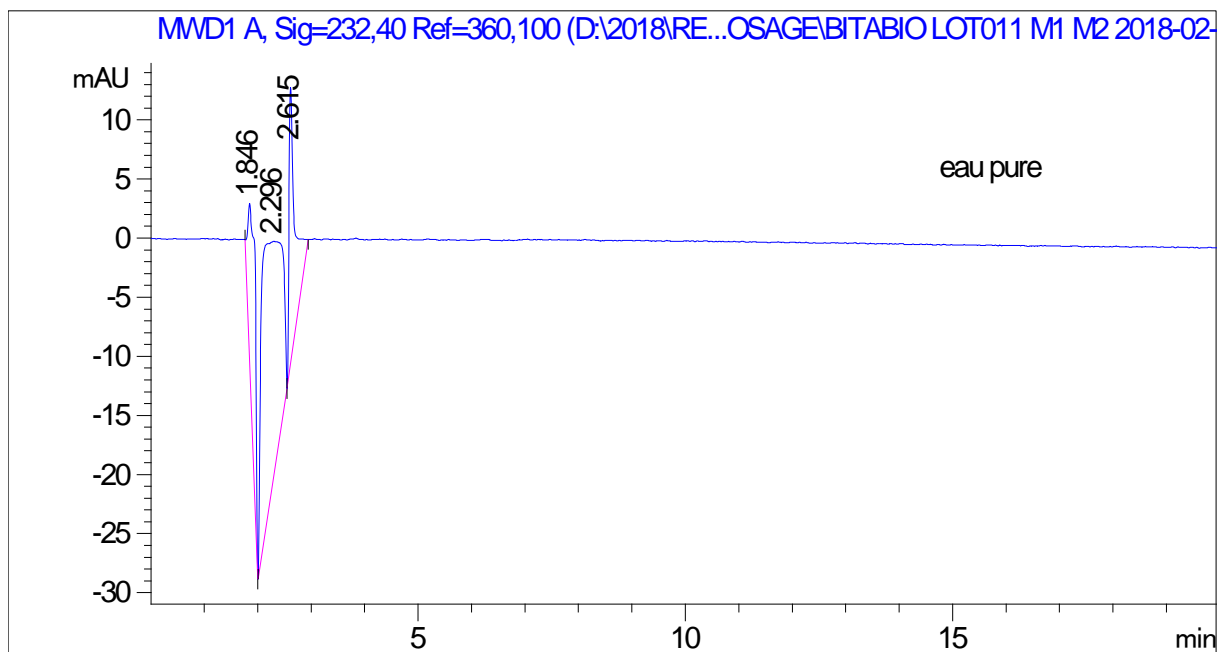


Chromatogramme de l'eau de rinçage

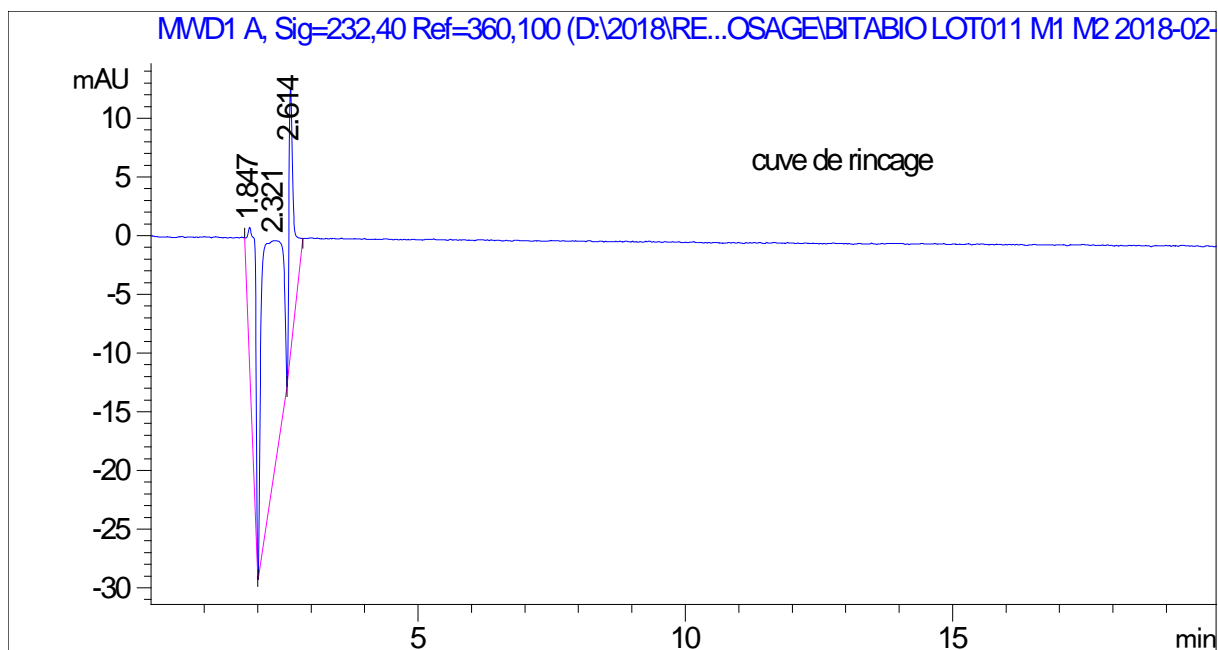
2<sup>ème</sup> résultat de l'HPLC :



Chromatogramme du témoin (oxymétazoline)



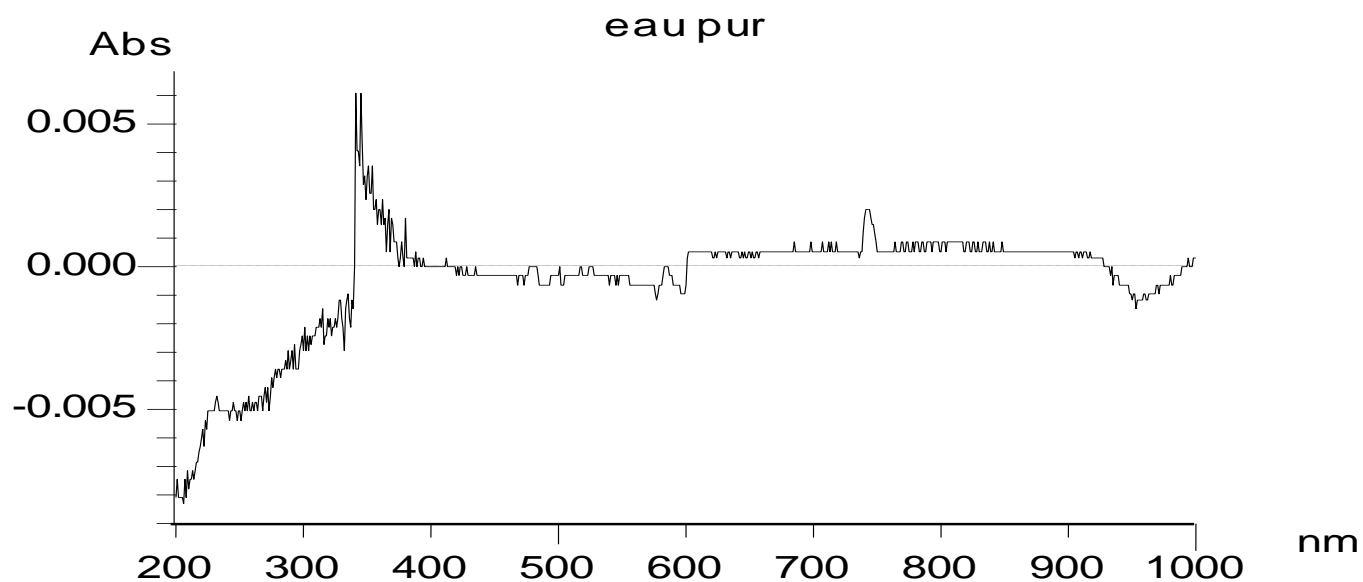
Chromatogramme de l'eau pure



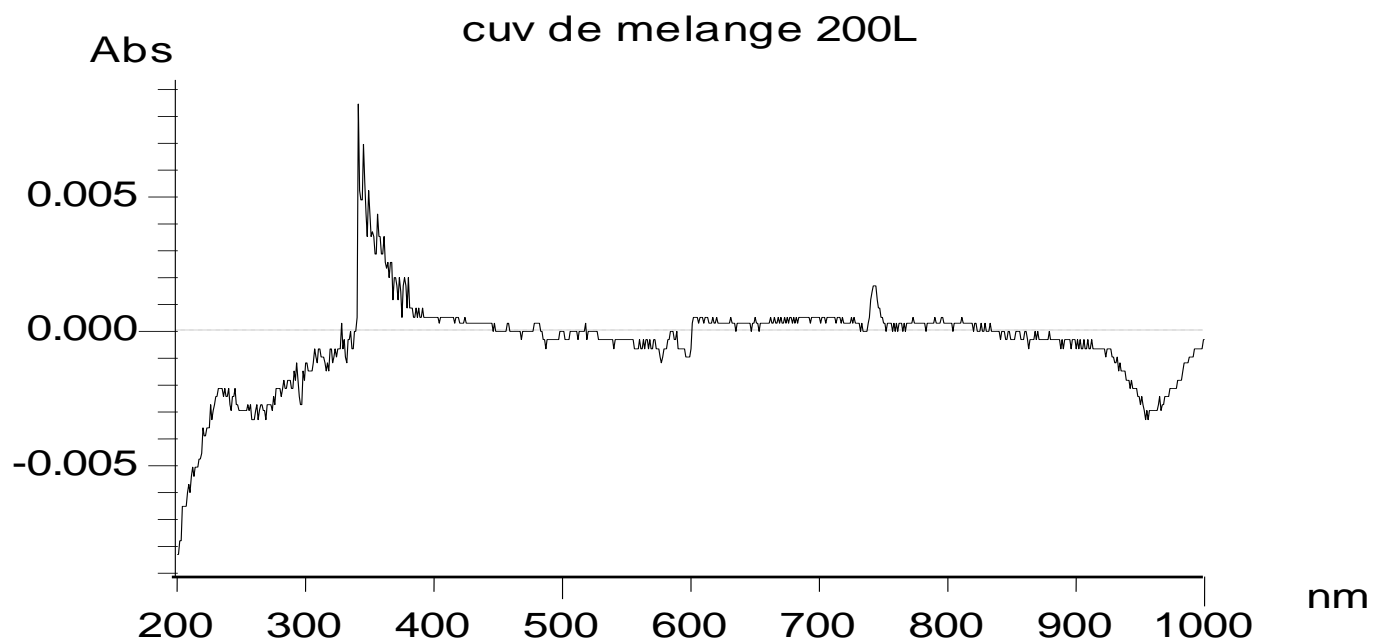
Chromatogramme de l'eau de rinçage

**Annexe 6: résultat de spectroscopie UV/VISIBLE**

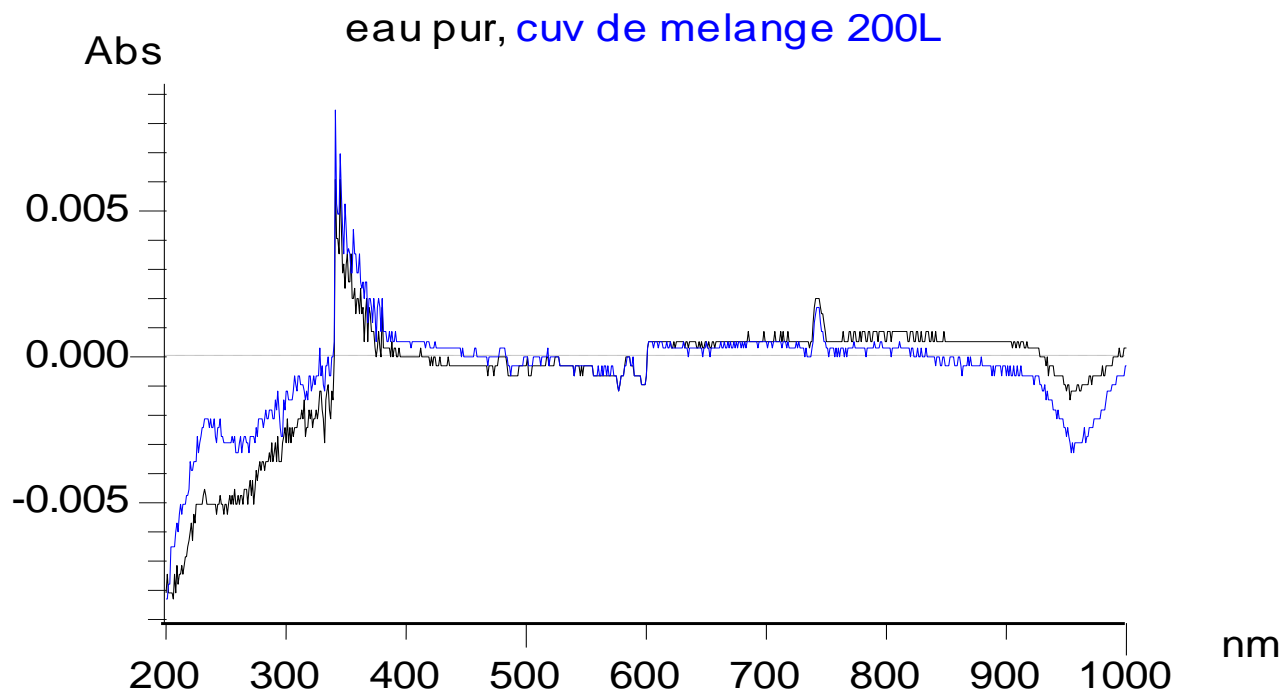
**2<sup>ème</sup> résultat :**



**Spectre UV/VIS de l'eau purifier**

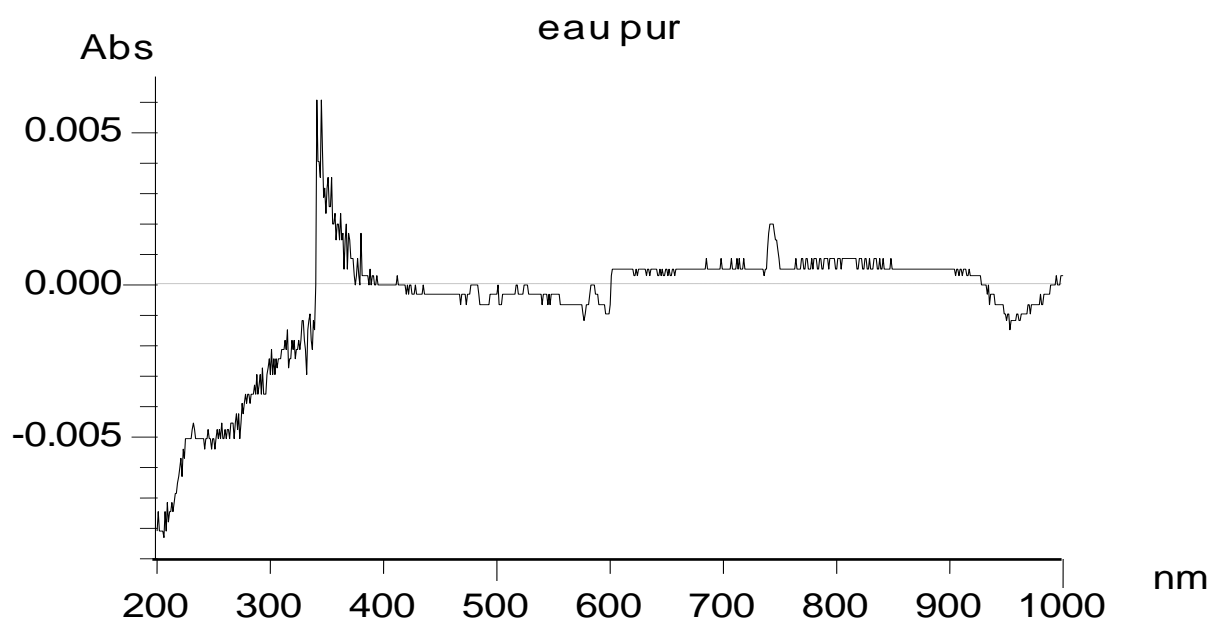


**Spectre de l'eau de rinçage**

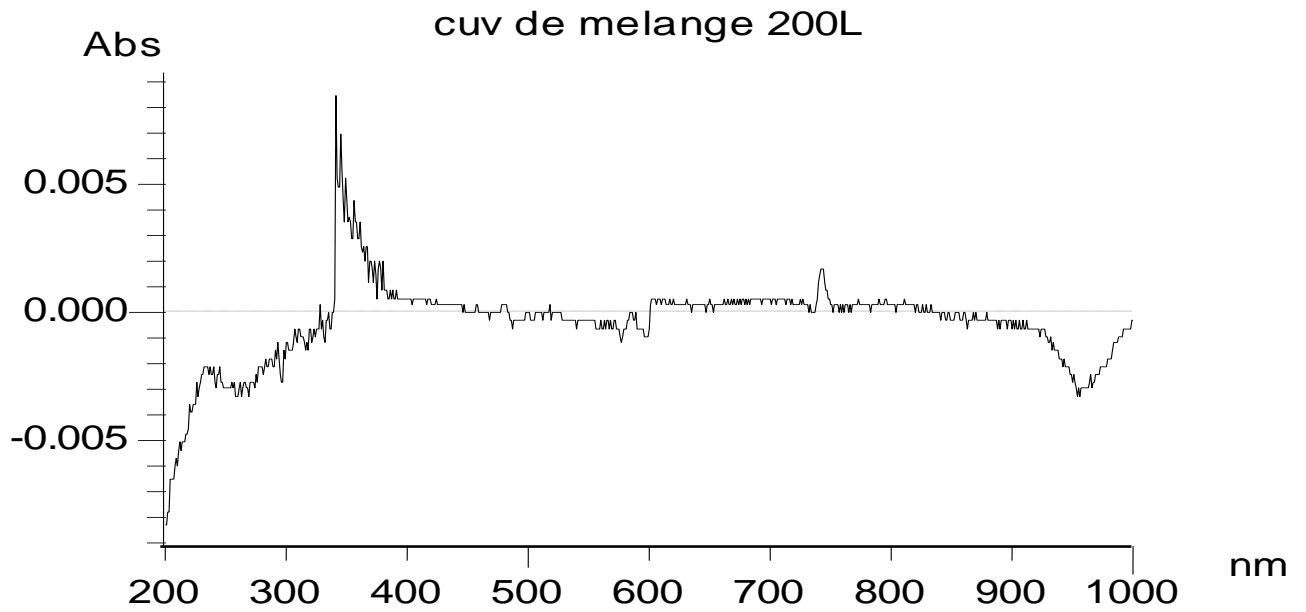


### La comparaison entre l'eau pure et l'eau de rinçage

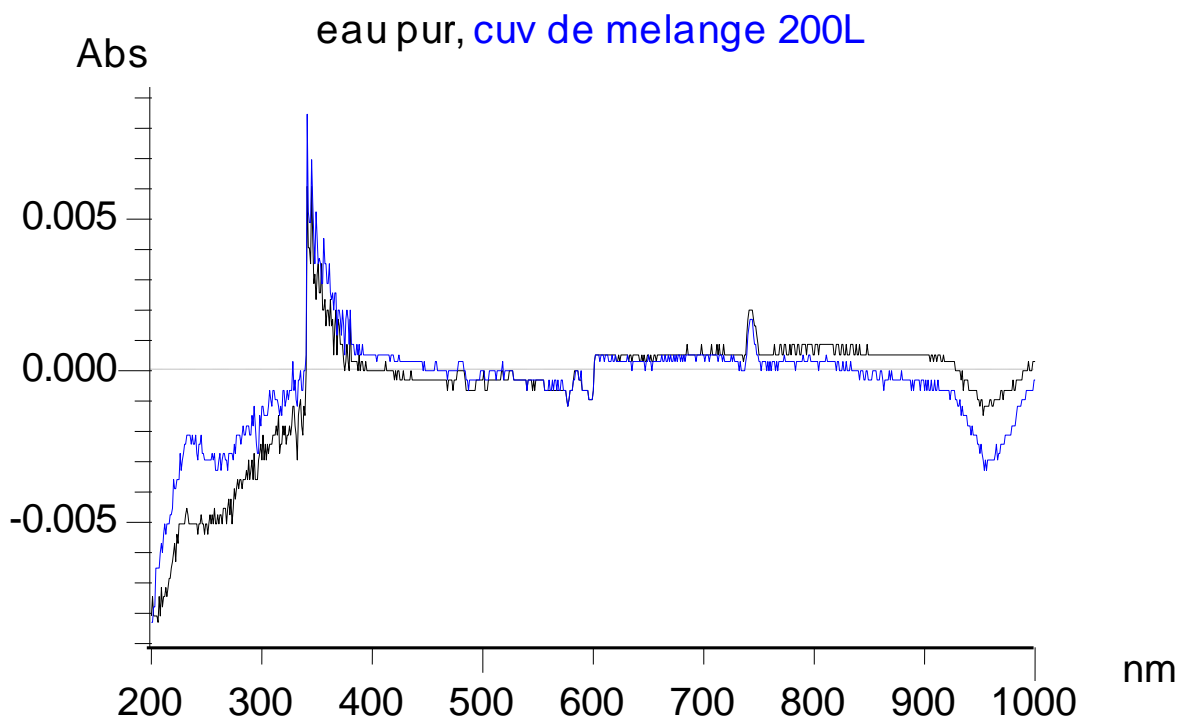
3<sup>ème</sup> résultat :



Spectre UV/VIS de l'eau purifier



**Spectre de l'eau de rinçage**



**La comparaison entre l'eau pure et l'eau de rinçage**

## Annexe 7 : Composants de milieux de culture recommandés

<b>Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja</b>		<b>Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja</b>	
Peptone pancréatique de caséine	17,0 g	Peptone pancréatique de caséine	15,0 g
Peptone papaique de soja	3,0 g	Peptone papaique de soja	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g	Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate dipotassique	2,5 g	Gélose	15,0 g
Glucose monohydraté	2,5 g	Eau purifiée	1000 mL
Eau purifiée	1000 mL		
<b>Milieu Sabouraud dextrosé-gélosé</b>		<b>Milieu liquide Sabouraud dextrosé</b>	
Dextrose	40,0 g	Dextrose	20,0 g
Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine (1:1)	10,0 g	Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine (1:1)	10,0 g
Gélose	15,0 g	Eau purifiée	1000 mL
Eau purifiée	1000 ml		
<b>Milieu gélosé à la bile-violet-rouge avec glucose</b>		<b>Milieu gélosé de MacConkey</b>	
Extrait de levure	3,0 g	Hydrolysats pancréatique de gélatine	17,0 g
Hydrolysats pancréatique de gélatine	7,0 g	Peptones de viande et de caséine	3,0 g
Sels biliaires	1,5 g	Lactose monohydraté	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g	Chlorure de sodium	5,0 g
Glucose monohydraté	10,0 g	Sels biliaires	1,5 g
Gélose	15,0 g	Gélose	13,5 g
Rouge neutre	30 mg	Rouge neutre	30,0 mg
Violet cristallisé	2 mg	Violet cristallisé	1 mg
Eau purifiée	1000 mL	Eau purifiée	1000 mL
<b>Milieu d'enrichissement pour les entérobactéries- Mossel</b>		<b>Milieu liquide de MacConkey</b>	
Hydrolysats pancréatique de gélatine	10,0 g	Hydrolysats pancréatique degélatine	20,0 g
Glucose monohydraté	5,0 g	Lactose monohydraté	10,0 g
Bile de boeuf déshydratée	20,0 g	Bile de boeuf déshydratée	5,0 g
Phosphate monopotassique	2,0 g	Pourpre de bromocrésol	10 mg
Phosphate disodique dihydraté	8,0 g	Eau purifiée	1000 mL
Vert brillant	15 mg		
Eau purifiée	1000 mL		
<b>Milieu gélosé-cétrimide</b>		<b>Milieu d'enrichissement pour les entérobactéries-Mossel</b>	
Hydrolysats pancréatique de gélatine	20,0 g	Hydrolysats pancréatique de gélatine	20,0 g
Chlorure de magnésium	1,4 g	Chlorure de magnésium	1,4 g
Sulfate dipotassique	10,0 g	Sulfate dipotassique	10,0 g
Cétrimide	0,3 g	Cétrimide	0,3 g
Gélose	13,6 g	Gélose	13,6 g
Eau purifiée	1000 mL	Eau purifiée	1000 mL
Glycérol 10,0	mL	Glycérol	10,0 mL



Milieu gélosé à la bile-violet-rouge avec glucose		Milieu gélosé xylose-lysine-désoxycholate	
Extrait de levure	3,0	Xylose	3,5
g		g	
Hydrolysats pancréatique de gélatine	7,0	L-Lysine	5,0
g		g	
Sels biliaires	1,5	Lactose monohydraté	7,5
g		g	
Chlorure de sodium	5,0	Saccharose	7,5
g		g	
Glucose monohydraté	10,0	Chlorure de sodium	5,0
g		g	
Gélose	15,0	Extrait de levure	3,0
g		g	
Rouge neutre	30	Rouge de phénol	80
mg		mg	
Violet cristallisé	2	Gélose	13,5
mg		g	
Eau purifiée	1000	Désoxycholate sodique	2,5
mL		g	
		Thiosulfate de sodium	6,8
		g	
		Citrate ferrique et d'ammonium	0,8
		g	
		Eau purifiée	1000
		mL	
Milieu liquide d'enrichissement pour les salmonelles Rappaport-Vassiliadis		Solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7,0	
Peptone de soja	4,5	Phosphate monopotassique	3,6
g		g	
Chlorure de magnésium Hexahydraté	29,0	Phosphate disodique dihydraté 7,2 g	
g		équivalent à 0,067 M de phosphate	
Chlorure de sodium	8,0	Chlorure de sodium	4,3
g		g	
Phosphate dipotassique	0,4	Peptone de viande ou de caséine	1,0
g		g	
Phosphate monopotassique	0,6	Eau purifiée	1000
g		mL	
Vert malachite	0,036		
g			
Eau purifiée	1000		
mL			



# *Résumé*

### **Résumé**

Aujourd'hui, le médicament est l'un des produits les plus contrôlés et les plus sécurisés dans les secteurs de la production, où la réglementation est toujours de plus en plus exigeante. L'objectif de la qualité est de garantir la sécurité du consommateur. Et les normes de qualité les plus importantes sont l'hygiène.

Le processus de nettoyage joue un rôle important dans la qualité des produits pharmaceutiques, L'objectif de ce présent travail est d'essayer de réaliser un nettoyage et une décontamination par le détergent désinfectant « ANIOSTERILE DDN » d'une cuve de fabrication d'un médicament de forme liquide, au niveau du site industriel BIOGALENIC de Constantine ; dans un premier lieu, vérifier par la suite l'efficacité et la conformité du procédés du nettoyage avec les directives et les recommandations de la pharmacopée européenne, pour enfin valider le processus du nettoyage par une preuve documenté concluante.

Les résultats ont montré qu'il n'y avait aucune trace du détergent, du principe actif du médicament, des microbes ou autres contaminants. Ces résultats répondent aux critères d'acceptation de la pharmacopée européenne et par conséquent la méthode de nettoyage décrite dans ce travail pourrait être validé et adopté à l'avenir.

**Mot clés :** Contamination, Nettoyage, Validation, Procédure de nettoyage, validation de procédé de nettoyage, Analyses physicochimiques et microbiologique.

### الملخص

اليوم، الدواء هو واحد من أكثر المنتجات مراقبة وأكثرها أماناً على مستوى قطاعات الإنتاج، حيث الأنظمة دائماً تكون أكثر تطلباً. الهدف من الجودة هو ضمان سلامة المستهلك و من اهم معايير الجودة النظافة.

تلعب عملية التنظيف دورا هاما في جودة المنتجات الصيدلانية، لذلك قمنا في دراستنا هذه بعمل تحقق من عملية التنظيف باستعمالا المطهر "الايوستريل" لبرميل الخلط الخاصة بالشكل السائل على مستوى مصنع الادوية بيوغالينيك- قسنطينة و ذلك بأخذ عينات ماء الشفط بعد عملية التنظيف الكبيرة لبرميل الخلط من اجل التحاليل الفيزيوكيميائية ( التحاليل العامة والتحاليل الخاصة ) ، والميكروبيولوجية.

اثبتت لنا النتائج عدم وجود أي اثار للمنظف او العنصر النشط او مكروبات او ملوثات اخرى وان وجدت فبتراكيز منخفضة واعتمادا على دستور الأدوية الأوروبي الطبعة الثامنة هذه النتائج ترقى الى معايير القبول وبالتالي الطريقة المتبعة في التنظيف الموصوفة في هذا العمل فعالة ويمكن اعتمادها مستقبلا..

الكلمات المفتاحية : التلوث ، التنظيف ، التحقق ، إجراء التنظيف ، التحقق من عملية التنظيف ، التحليلات الفيزيائية الكيميائية والميكروبيولوجية.

### Abstract

Today, the drug is one of the most controlled and secured products in the production sectors, where regulations are always more demanding. The aim of quality is to guarantee the safety of the consumer and the most important quality standards are hygiene.

The cleaning process plays an important role in the quality of the pharmaceutical products, therefore, in this study; we carried out a validation of cleaning process of the liquid form mixing tank in the pharmaceutical industry BIOGALINIQUE; to achieve this after the major cleaning process of the mixing tank, we take samples of rinsing water for physicochemical analyzes (global analysis and specific analysis), and microbiological (DLMT, DGAT, research of *E. coli*...) and we do this process three times.

The results showed that there was no trace of detergent, active ingredient, microbes or other contaminants, and if found, found with low concentrations and according to the European Pharmacopoeia 8th edition these results meet the criteria of acceptance and cleaning method described in this work is effective, and could be adopted in the future.

**Key words:** Contamination, Cleaning, Validation, Cleaning procedure, validation of cleaning process, Physicochemical and microbiological analyzes.

<b>Noms et Prénoms :</b>  <b>BAAZIZ Ahmed Chaouki</b>  <b>BOULAKZAZ Abdellah</b>	<b>Date de soutenance : 28/06/2018</b>
<b>Thème : Validation d'un procédé de nettoyage physico-chimique et microbiologique d'une cuve de mélange ' forme liquide '</b>	
<b>Résumé :</b>  <p>Aujourd'hui, le médicament est l'un des produits les plus contrôlés et les plus sécurisés dans les secteurs de la production, où la réglementation est toujours de plus en plus exigeante. L'objectif de la qualité est de garantir la sécurité du consommateur Et les normes de qualité les plus importantes sont l'hygiène.</p> <p>Le processus de nettoyage joue un rôle important dans la qualité des produits pharmaceutiques, L'objectif de ce présent travail est d'essayer de réaliser un nettoyage et une décontamination par le détergent désinfectant « ANIOSTERILE DDN » d'une cuve de fabrication d'un médicament de forme liquide, au niveau du site industriel BIOGALENIC de Constantine ; dans un premier lieu, vérifier par la suite l'efficacité et la conformité du procédés du nettoyage avec les directives et les recommandations de la pharmacopée européenne, pour enfin valider le processus du nettoyage par une preuve documenté concluante.</p> <p>Les résultats ont montré qu'il n'y avait aucune trace du détergent, du l'principe actif du médicament, des microbes ou autres contaminants. Ces résultats répondent aux critères d'acceptation de la pharmacopée européenne et par conséquent la méthode de nettoyage décrite dans ce travail pourrait être validé et adopté à l'avenir.</p>	
<b>Mot clés :</b> Contamination, Nettoyage, Validation, Procédure de nettoyage, validation de procédé de nettoyage, Analyses physicochimiques et microbiologique.	
<b>Laboratoires :</b> Laboratoire de contrôle qualité physico-chimique et microbiologique de société BIOGALENIC, la zone industrielle Zighoud Youcef 25000 Constantine.	
<b>Président de jury:</b> Mr. KACEM CHAUCHE.N                      Prof. UFM Constantine 1. <b>Rapporteur :</b> Mr. ADJEROUD.M                                      MAA .Univ. Constantine 1. <b>Examinatrice :</b> Mme. BENCHIHEUB M                              MCB Univ. Constantine 1. <b>Maitre de stage :</b> Mme. BENHAZIL I.                                      BIOGALENIC production.	