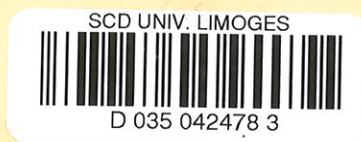


UNIVERSITE DE LIMOGES

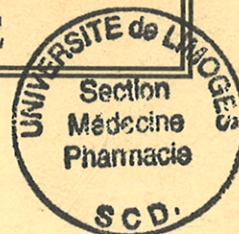
FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE 1999



THESE N° 343/12

**ETUDE METHODOLOGIQUE DE VALIDATION DES
PROCEDURES DE NETTOYAGE EN MILIEU
INDUSTRIEL PHARMACEUTIQUE**



THESE

pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie

présentée et soutenue publiquement le 26 Octobre 1999

par

Florence SERMADIRAS

Née le 12 Mars 1974 à Limoges (Haute-Vienne)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur Philippe CARDOT.....Président
Madame le Professeur Dominique CHULIA.....Juge
Madame Marie-Françoise DREYFUSS, *Maître de Conférences*.....Juge
Monsieur Bertrand DIGONNET, *Docteur en Pharmacie*.....Juge

Remerciements

Monsieur Philippe Cardot

Professeur de Chimie analytique - Faculté de Pharmacie de Limoges

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Vous avez toujours été présent pour m'aider et j'ai beaucoup appris à vos côtés.

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

Madame Dominique Chulia

Professeur de Pharmacotechnie - Faculté de Pharmacie de Limoges

Vous avez accepté de juger mon travail. Vous avez su être d'une grande disponibilité au cours de mes études.

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère considération.

Madame Marie-Françoise Dreyfuss

Maître de Conférences en Chimie analytique - Faculté de Pharmacie de Limoges

Je vous remercie de vous intéresser à mon étude en siégeant à ce jury. Je vous remercie pour votre gentillesse et votre compréhension.

Veillez trouver ici toute mon estime et ma reconnaissance.

Monsieur Bertrand Digonnet

Pharmacien responsable du Contrôle qualité des laboratoires

Bristol-Myers Squibb - Meymac

Vous m'avez accueilli au sein du laboratoire de contrôle et fait confiance pour mener à bien cette étude.

Je vous exprime ma sincère reconnaissance d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je remercie également toutes les techniciennes du laboratoire pour leur aide et leur accueil et particulièrement Mademoiselle Laurence Vermande sans qui mon travail n'aurait pas été réalisable.

*A mes parents,
pour m'avoir permis de poursuivre mes études dans les meilleures
conditions.*

*A Antoine,
pour son aide et son soutien moral.*

*A mes amis,
pour leur accompagnement et leur fidélité tout au long de ces années.*

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE

<u>DOYEN DE LA FACULTE :</u>	Monsieur le Professeur GHESTEM Axel
<u>ASSESSEURS :</u>	Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard Monsieur le Professeur DREYFUSS Gilles
<u>PROFESSEURS :</u>	
BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE
BERNARD Michel	PHYSIQUE - BIOPHYSIQUE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE - PARASITOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE - CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
DREYFUSS Gilles	PARASITOLOGIE - MYCOLOGIE MEDICALE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE - HYDROLOGIE - ENVIRONNEMENT
LOUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE

SECRETARE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES
ADMINISTRATIFS : POMMARET Maryse

SOMMAIRE

INTRODUCTION

APPROCHE THEORIQUE DE LA VALIDATION DE NETTOYAGE

Démarche d'une validation de nettoyage

Le nettoyage

Les différentes méthodes de prélèvement

Les différentes méthodes d'analyse

Recommandations de la FDA pour les validations de nettoyage

Conclusion

EXEMPLE DE VALIDATION DE NETTOYAGE : CONTROLE DE L'ABSENCE DE RESIDUS DE NADOLOL

Présentation

Introduction

Le Nadolol

Protocole de validation de nettoyage

Validation de la méthode de dosage

Validation du nettoyage

Conclusion

ANNEXES

BIBLIOGRAPHIE

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

BPL : Bonnes Pratiques de Laboratoire

CCM : Chromatographie Couche Mince

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC : High Performance Liquid Chromatography)

COT : Carbone Organique Total

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FDA : Food and Drug Administration

GMP : Good Manufacturing Practices

LAL : Lysat d'Amoebocytes de Limules (Limulus polyfusus)

NEP : Nettoyage En Place

PPI : Pour Préparation Injectable

ppm : parties par millions

UV : Ultra-Violet

INTRODUCTION

Le sujet développé touche un domaine concernant actuellement toute industrie (pharmaceutique ou autre) : la validation des procédés de nettoyage, qui a pris une importance croissante avec la volonté de maîtriser les risques de contamination croisée liée à l'utilisation d'un même équipement pour la fabrication de produits différents.

Le nettoyage des équipements et des locaux fait partie des opérations déterminantes dans le processus de production d'un produit pharmaceutique afin de garantir que les procédés de fabrication sont mis en œuvre dans des locaux et avec du matériel propres et donc que la qualité est assurée.

L'objectif d'une validation de nettoyage consiste à démontrer que la quantité résiduelle de produits présents après le nettoyage ne dépasse pas une certaine limite préalablement établie selon des critères de qualité et de sécurité pour éviter la contamination du produit suivant fabriqué sur les mêmes équipements. Les composants d'un programme de validation sont le choix de la méthode de prélèvement et de la méthode d'analyse qui doit être très sensible afin de pallier l'activité de certains composés pour des quantités très faibles (antibiotiques, hormones).

Une fois les procédures de nettoyage validées, il est néanmoins nécessaire de vérifier, par une revalidation régulière ou des mesures plus ponctuelles, que le nettoyage reste efficace.

Il sera ici présenté les principales méthodes (nettoyage, prélèvement, analyse) nécessaires à la réalisation d'un programme de validation de nettoyage puis un exemple pratique étudié dans le cadre d'un stage au sein du groupe Bristol-Myers-Squibb.

APPROCHE THEORIQUE DE LA
VALIDATION DE NETTOYAGE

I. DEMARCHE D'UNE VALIDATION DE NETTOYAGE

1. Introduction

La validation de nettoyage des équipements peut être complexe : depuis la définition des prérequis à la validation, l'établissement du protocole de validation avec la détermination des critères d'acceptation, le choix de la méthode de prélèvement et d'analyse, jusqu'à la rédaction du rapport de validation.

Elle est néanmoins nécessaire pour prévenir le risque de contamination (surtout la contamination croisée d'un lot par des quantités résiduelles significatives du lot précédent) et ainsi assurer la qualité des produits fabriqués. Le bénéfice d'une telle démarche est la connaissance et donc la correction d'éventuels problèmes non établis auparavant et qui pourraient compromettre la sécurité, l'efficacité et la qualité des lots produits.

Dans ce domaine, il n'existe pas de règles précises mais seulement des recommandations : le document ici présenté doit être alors considéré comme un exemple de démarche, basé sur l'expérience acquise en milieu industriel.

2. Définitions

Selon les BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication, -1-), la validation est « *l'établissement de la preuve, en conformité avec les principes de bonnes pratiques de fabrication, que la mise en œuvre 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* ».

Selon ce principe, valider un procédé de nettoyage consiste alors à 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, et ceci de manière reproductible.

3. Prérequis à la validation

Avant d'entamer toute démarche de validation, il faut avoir au préalable :

- * fixé les objectifs à atteindre en terme de propreté,
- * défini les points critiques des équipements, surfaces et locaux susceptibles d'être des sources de contamination,
- * qualifié les équipements,
- * assuré la formation du personnel chargé du nettoyage,
- * qualifié le matériel et les produits de nettoyage afin de prouver leur utilisation adéquate sans altérer ni contaminer les surfaces à nettoyer,
- * rédigé la procédure de nettoyage qui précisera les éléments nécessaires au déroulement du nettoyage,
- * défini les rendements de prélèvement (rapport quantité prélevée / quantité réellement présente) et de traitement (rapport quantité analysée / quantité prélevée), qui constituent le rendement de récupération (rapport quantité analysée / quantité présente). Ce dernier permet donc de calculer les quantités réellement présentes sur la zone de prélèvement.

4. Protocole de validation

Le protocole de validation, établi préalablement à la validation, répertorie ses conditions de mise en œuvre :

- ♦ le domaine d'application ;
- ♦ les objectifs en matière de propreté : surtout principes actifs et détergents, tous les contaminants ne pouvant être évalués dans un programme de validation ;

- ♦ les références des validations antérieures avec éventuellement des notes explicatives sur la méthode de validation ;
- ♦ la procédure de validation décrivant les équipements à échantillonner avec les différents points de prélèvements ;
- ♦ les critères d'acceptation ;
- ♦ les références des procédures de nettoyage ;
- ♦ la durée de validité de la validation.

Le protocole de validation est rédigé avec logique et raisonnement en tenant compte du rapport bénéfice/risque et du coût afin de rendre la démarche gérable. Il doit être vérifié et approuvé par les personnes responsables.

Quand le produit est fabriqué à différents dosages, la validation est réalisée avec la plus forte concentration de principe actif et elle est alors valable pour les autres concentrations. De plus, pour un type d'équipement (cuves par exemple), quand leur facilité de nettoyage par rapport à leur configuration et la nature des composés sont semblables, la validation est limitée à une seule cuve, tout en étant valable pour les autres (ou avec une simple vérification).

D'une manière générale, la validation est mise en place dans le cas le plus défavorable (worst case, -2-) pour le nettoyage (en ce qui concerne la concentration ou la solubilité des composés, la facilité de nettoyage des équipements...) et lorsque les résultats permettent de valider la procédure de nettoyage sous ces conditions, la validation peut être extrapolée aux autres cas. Ceci permet de réduire le nombre d'analyses.

5. Principe de validation de nettoyage

Après prélèvement de la zone à étudier, l'échantillon subit un traitement afin de pouvoir être analysé et d'évaluer la contamination résiduelle par prélèvement. Le résultat est alors comparé au critère d'acceptation préalablement fixé, en tenant compte des rendements de prélèvement et de traitement, ces deux paramètres constituant le rendement de récupération (qui aura été aussi déterminé au préalable).

Il est généralement réalisé au moins trois séries de prélèvements dont l'analyse doit fournir des résultats inférieurs à la limite définie pour que la méthode de nettoyage soit validée.

5.1. Choix des divers paramètres à considérer pour la validation

5.1.1. Contaminants

Les contaminants à rechercher sont sélectionnés selon leur nature et leur toxicité : il peut s'agir de contaminants d'origine :

- chimique (principes actifs, excipients, détergents, produits de dégradation...).

Le problème posé par la contamination croisée de principes actifs est non seulement l'exposition des patients aux contaminants mais également le risque d'interaction pharmacologique entre les produits.

L'utilisation des détergents nécessite de s'assurer de l'absence de ces composés après le nettoyage. La difficulté réside dans l'ignorance de la composition exacte des détergents et donc des substances à rechercher.

- microbiologique (microorganismes et endotoxines) : lors de la maintenance, du nettoyage ou du stockage des équipements. La contamination microbiologique pose évidemment un sérieux problème pour les produits stériles mais aussi les non stériles notamment ceux dont les conditions de conservation (conservateurs...) pourraient permettre une prolifération microbienne.

Même si les équipements peuvent être stérilisés en plus du nettoyage, la principale préoccupation reste la prévention de la contamination microbienne lors de la production, du nettoyage (contamination possible par l'eau, les solvants, les détergents, les matériels de nettoyage ou l'environnement) et du stockage (par l'environnement).

En effet, l'objectif principal du nettoyage est la suppression des contaminants chimiques et non l'élimination ou la destruction des microbes. De plus, l'éventuelle stérilisation est d'autant plus efficace que la charge microbienne est faible.

• particulaire : lors de la fabrication, du nettoyage ou de la maintenance. La contamination particulaire est constituée de particules visibles (fibres, poils de brosse...) ou microscopiques et peut être évaluée en contrôlant la qualité de l'eau de rinçage (en s'assurant que toute la surface concernée est bien en contact avec l'eau), par une étude microscopique ou un compteur de particules.

Dans ce type de contamination, il sera également défini un critère d'acceptation, basé sur le risque de contamination d'un lot suivant.

Cependant, les sources de contamination demeurent très diversifiées et il existe un risque de contamination accidentelle et donc imprévisible. Le programme de validation de nettoyage inclut ainsi les contaminants classiques (entrant dans la composition des médicaments), mais également ceux qui ont été en contact avec l'équipement en dehors de la production (agents de nettoyage, lubrifiants, instruments de nettoyage...), en tenant compte des éventuels problèmes rencontrés au cours des validations antérieures.

5.1.2. Equipements

Les équipements choisis interviennent dans le procédé de fabrication du produit étudié, et les différents points critiques de chaque élément doivent être définis.

Ces points critiques correspondent aux pièces les moins accessibles et susceptibles d'être des sources de contamination. Ils sont déterminés par raisonnement ou par expérience mais ils ne doivent pas être définitifs, la validation du nettoyage servant également à acquérir une meilleure connaissance de ceux-ci. En effet, un des bénéfices les plus importants à retirer d'une validation de nettoyage est l'identification et la correction d'éventuels problèmes non envisagés au préalable et pouvant compromettre la sécurité, l'efficacité et la qualité des lots produits. Ces zones à risque peuvent être :

- des zones à forte concentration de principes actifs (fond de cuves),
- des zones difficiles à nettoyer (grilles),
- des zones pouvant entraîner, en cas de contamination, une contamination croisée d'une partie d'un lot (poinçons).

Remarque : il est préférable d'utiliser des équipements spécifiques lorsque les produits sont difficiles à éliminer, que la contamination de certains composés (tels les antibiotiques et les stéroïdes) présente un risque élevé ou que la configuration des équipements rend le nettoyage difficile (-3-).

5.1.3. Critère d'acceptation

Le critère d'acceptation correspond à une valeur limite à ne pas dépasser faisant intervenir plusieurs paramètres (-4-) :

- ♦ la toxicité du contaminant, la voie d'administration du médicament (orale, externe, parentérale...) et le type de traitement (occasionnel, à court terme, à long terme, à vie) ;
- ♦ la surface de l'équipement en contact avec le produit et commune avec le produit suivant ;
- ♦ la taille de lot ;
- ♦ le facteur de sécurité, correspondant aux conditions les plus défavorables.

Ce critère d'acceptation reste malgré tout à déterminer selon des paramètres propres à chaque entreprise selon son activité mais également en tenant compte de la sensibilité de la méthode d'analyse.

Il est courant de trouver des limites exprimées en ppm de contaminant par lot de produit. Cette unité est intéressante si elle a une correspondance avec la quantité à laquelle le malade est exposé, permettant ainsi de déterminer l'absence d'effets sur l'organisme d'une éventuelle exposition chronique à ces petites quantités de produit. La limite d'acceptation correspondrait ainsi à une quantité de produit négligeable d'un point de vue pharmacologique, c'est-à-dire sans aucun effet sur l'organisme.

Trois principales limites d'acceptation sont souvent prises en compte (-5-) :

- pas plus de 1/1000 de la dose d'un produit ne doit apparaître dans la dose maximale journalière d'un autre produit,

- pas plus de 10 ppm d'un produit ne doivent être présents dans un autre produit,
- aucun résidu ne doit être visible sur l'équipement de production après nettoyage. Il est à noter qu'un produit peut remplir les deux premiers critères sans respecter ce dernier : les équipements doivent donc être au moins nettoyés jusqu'à ce que la quantité résiduelle soit assez faible pour ne plus être visible.

5.1.4. Méthode de prélèvement

La méthode de prélèvement est choisie en fonction du contaminant et des équipements mais également selon sa facilité de mise en œuvre et son rendement de prélèvement.

Avant d'être analysé, l'échantillon est traité avec un rendement de traitement maximum.

5.1.5. Méthode d'analyse

La méthode d'analyse doit être validée : elle est choisie selon sa sensibilité et sa précision.

Pour que les résultats soient plus facilement interprétables, il faudra en général un minimum de trois essais dans les mêmes conditions.

Certaines entreprises réalisent plusieurs échantillons pour le même essai jusqu'à ce que la quantité résiduelle soit acceptable, mais ceci n'est utilisé que pour des cas exceptionnels, pour éventuellement montrer l'inefficacité d'un procédé de nettoyage.

5.2. Rapport de validation et revalidation

Le rapport de validation contient les analyses des résultats et les conclusions à en tirer. Il peut contenir également des propositions ou des recommandations pour améliorer, changer (changements d'agents de nettoyage par exemple), ou approuver les procédures de nettoyage en fonction des résultats obtenus par rapport aux critères d'acceptation.

Une fois le rapport rédigé, il fait office de document de référence. Cependant, des contrôles de routine sont mis en place pour assurer le suivi de la validation de nettoyage et

ainsi vérifier que les moyens humains et matériels mis en œuvre sont toujours opérationnels et efficaces.

La validation doit être reconduite périodiquement selon une durée (période de validité) spécifique à chaque entreprise selon ses activités.

Une revalidation est également mise en œuvre lors d'un changement de normes, de composition des produits, des équipements de production ou de procédure de nettoyage (matériels de nettoyage, détergents, méthode de nettoyage), dans la mesure où ces changements auraient un impact significatif sur les résultats de la validation en cours et qu'ils remettraient en question sa validité. La procédure est alors revalidée en totalité ou partiellement (validation réduite).

6. Conclusion

Le but d'une validation de nettoyage étant la vérification de l'efficacité et du suivi des procédures de nettoyage, ces dernières sont donc confirmées, mises à jour ou changées au terme de la validation.

Le niveau de propreté à atteindre variant avec les paramètres spécifiques d'un établissement, d'une substance voire d'un type de fabrication, la fixation de normes ne peut être qu'interne à chaque entreprise. Il est donc primordial pour conduire de manière satisfaisante une validation de nettoyage de consacrer le temps nécessaire à définir les conditions de cette étude.

En matière de validation de nettoyage, la stratégie est actuellement de mettre à profit l'expérience acquise au cours des dernières années en l'adaptant aux conditions de fabrication de chaque entreprise. La validation semble évoluer de plus en plus au fur et à mesure que les industriels développent ces techniques.

Cette étude montre que l'activité de nettoyage et sa validation font partie intégrante des procédés de production. Ainsi, l'assurance du nettoyage effectif de l'équipement servant pour un lot doit apparaître comme la première étape de fabrication du produit suivant sur le même matériel.

II. LE NETTOYAGE

1. Définition

Le nettoyage peut être défini comme l'élimination des contaminants indésirables (visibles ou invisibles) qui sont, en ce qui concerne la production pharmaceutique : les principes actifs et les excipients, les microorganismes et endotoxines, les particules d'origines diverses (provenant du matériel de nettoyage, de l'environnement...), les lubrifiants mais également, paradoxalement, les résidus de détergents.

Le nettoyage doit satisfaire à trois exigences :

- éliminer la souillure,
- ne pas altérer le support (les nettoyages les plus radicaux étant souvent les plus agressifs pour les revêtements),
- ne pas être un facteur de contamination ni un vecteur de transfert de contamination.

Les caractéristiques du nettoyage sont répertoriées dans des procédures, qui diffèrent selon les composés à éliminer, les équipements à nettoyer, les circonstances de la mise en place du nettoyage, la technique et les produits de nettoyage utilisés. Tous les éléments intervenant dans le nettoyage sont contrôlés afin d'en assurer l'efficacité sans générer de contamination.

2. Réglementation en matière de nettoyage

Le nettoyage fait partie intégrante de la qualité des médicaments en ce qui concerne l'absence de substances étrangères à leur composition initiale.

Diverses recommandations peuvent servir de référence nationale (BPF et BPL), européenne (BPF) ou internationale (GMP et guide FDA) mais il n'existe pas de réelle règle de validation de nettoyage. En effet, la diversité des produits et techniques de fabrication comme des entreprises elles-mêmes ne permet pas de fixer de norme universelle : il appartient donc à

chaque établissement de s'assurer par une démarche de validation que les nettoyages des différents matériels utilisés pour la fabrication sont efficaces et adéquats.

3. Caractéristiques du nettoyage

3.1. Tracabilité

La procédure de nettoyage, dans laquelle sont indiquées précisément toutes les étapes, est spécifique d'un équipement auquel est attribué un numéro d'identification afin d'éviter toute erreur.

De plus toutes les opérations effectuées sur l'équipement (fabrication, nettoyage, maintenance) sont répertoriées dans des documents de façon à pouvoir identifier les différentes étapes suivies par le matériel de production avant et après la fabrication d'un lot.

L'état de propreté (propre, à nettoyer...) doit apparaître au niveau des étiquettes fixées sur le matériel où sont également inscrits le dernier produit fabriqué et la durée de validité du nettoyage.

3.2. Fréquence

Le nettoyage est mis en place lors de diverses circonstances dépendant de la fabrication, du produit et de la maintenance :

- entre la fabrication de lots d'un même produit (mêmes principe actif et excipients à des doses identiques ou différentes) : les procédures de nettoyage sont généralement réduites et ne nécessitent pas de validation ;
- entre la fabrication de lots de produits différents (principes actifs et/ou excipients différents) : les procédures de nettoyage sont plus strictes ;
- après les opérations de maintenance : les procédures de nettoyage sont rigoureuses, la maintenance étant une source certaine de contamination ;
- après des contaminations accidentelles, quand les incidents sont connus ;

- lorsque la date de validité du nettoyage a expiré.

4. Contrôles

Pour assurer l'efficacité et la reproductibilité du nettoyage, tout le système utilisé pour le nettoyage doit être contrôlé :

- les solvants (eau, alcools, solvants organiques) : la qualité, la composition et l'origine des solvants doivent être contrôlées ;
- les détergents : contrôle de leur composition (quand elle est connue) ;
- les équipements de nettoyage : les équipements doivent être entretenus, qualifiés et contrôlés avec la même exigence que ceux servant à la fabrication ;
- accessoires (brosses, chiffons, éponges...) : ils ne doivent pas générer de contamination (fibres, poils) ;
- les annexes : quel que soit le type de lavage, il est suivi d'un séchage par la chaleur ou l'air comprimé qui doivent être exempts de tout contaminant.

5. Les différents modes de nettoyage

Les méthodes de nettoyage sont classées en trois catégories (-6-) :

- manuelles,
- semi-automatiques,
- automatiques.

Quelle que soit la méthode, elle est clairement rédigée dans la procédure de nettoyage correspondante précisant les différents cas dans lesquels elle est appliquée. En effet, la procédure différera par exemple selon qu'il s'agisse d'un nettoyage entre lots d'un même principe actif ou de produits différents pour lesquels elle sera beaucoup plus rigoureuse.

En ce qui concerne les équipements spécifiques (utilisés pour un seul principe actif), la procédure est différente des cas précédents mais ils devront être également nettoyés pour éviter la contamination d'un lot à l'autre et la prolifération microbienne.

5.1. Nettoyages manuels

Lorsque les procédures de nettoyage manuel sont bien étudiées et clairement rédigées puis appliquées par un personnel qualifié et entraîné, elles peuvent devenir plus efficaces qu'un nettoyage automatique. Il existe de nombreuses méthodes mais elles sont le plus souvent basées sur le même principe :

* démontage de l'équipement : selon des instructions claires et complètes.

* prélavage : cette étape permet d'éliminer la quantité visible maximale de résidus afin d'amener le matériel à un même état de souillure avant le lavage et ainsi assurer sa reproductibilité. Le prélavage est le plus souvent réalisé avec de l'eau et dépend du critère personnel d'appréciation de l'opérateur, critère devant donc être défini le plus précisément possible dans la procédure.

* lavage : cette étape est basée sur la dissolution des résidus. Si le nettoyage exige des détergents, ils sont utilisés à ce stade. L'emploi de tels agents chimiques nécessite de définir la concentration à laquelle ils doivent être utilisés et la méthode pour l'obtenir. Il devra être également précisé dans la procédure la température de l'eau ou des détergents (paramètre déterminant dans la dissolution) et le nombre de lavages.

* rinçages : les rinçages ont pour but d'éliminer le liquide de lavage qui contient eau, agent(s) de nettoyage et résidus dissous. Même si un seul rinçage peut conduire parfois à un niveau suffisant de propreté, il est généralement réalisé une série de rinçages qui s'avère être plus efficace en diminuant progressivement la quantité de contaminants. L'élément dominant à ce stade est la qualité de l'eau dont la pureté augmente avec les rinçages : pour les premiers rinçages, il est utilisé de l'eau courante, purifiée, distillée ou de l'eau PPI alors que le rinçage final est réalisé avec de l'eau purifiée ou de l'eau PPI. Il est précisé la température à laquelle l'eau de rinçage est employée.

* assemblage de l'équipement : lorsque les différentes parties sont sèches, elles sont remontées selon les instructions figurant dans la procédure et avec précaution afin d'éviter la recontamination du matériel.

Pour les méthodes manuelles, il est important de considérer lors la validation de nettoyage la variabilité en terme d'efficacité selon les opérateurs, en prenant en compte les différentes personnes chargées du nettoyage d'un même équipement (-7-).

5.2. Nettoyages semi-automatiques

Le nettoyage semi-automatique est constitué d'un enchaînement d'opérations manuelles et automatiques.

Ce type de nettoyage comprend les nettoyages en place (NEP) mobiles et les cabines de lavage ou des systèmes équivalents. Ils possèdent des caractéristiques communes avec les systèmes automatiques mais nécessitent une intervention humaine plus importante.

Les systèmes NEP sont installés sur les équipements (sans démontage) de façon temporaire le temps du nettoyage, celui-ci étant contrôlé soit automatiquement, soit par l'opérateur. Ils sont utilisés pour des équipements clos tels que les cuves et les mélangeurs et fonctionnent par aspersion ou circulation d'un fluide.

Les cabines de lavage sont des machines fixes fonctionnant automatiquement mais elles doivent être chargées et déchargées manuellement. Elles sont utilisées pour les containers, la verrerie et pour certains éléments. Ce type de lavage doit assurer un nettoyage uniforme dans toute la machine.

5.3. Nettoyages automatiques

Ce type de nettoyage permet d'améliorer la reproductibilité compte tenu de l'absence d'intervention des opérateurs au cours du processus de lavage. Mais l'automatisme implique que la machine puisse assurer l'efficacité du nettoyage quel que soit le degré de souillure des équipements.

Les nettoyages automatiques sont généralement des systèmes NEP semblables à ceux utilisés pour les nettoyages semi-automatiques mais contrôlés de manière entièrement automatique. Ils assurent la circulation des solutions de lavage et de rinçage à travers les équipements avec un flux, une température, une agitation et pendant un temps déterminés.

5.4. Conclusion

La validation consiste donc à évaluer l'efficacité du nettoyage en considérant les paramètres suivants :

- volumes de liquides utilisés pour le lavage et le rinçage,
- température de lavage et rinçage,
- vitesse et durée d'agitation,
- flux et pression des liquides,
- concentrations des détergents,
- qualités chimique et microbiologique de l'eau,
- durée et enchaînement des étapes du nettoyage.

Ainsi, dans le cas où la méthode de nettoyage n'est pas validée, elle peut être améliorée en changeant un ou plusieurs de ces paramètres.

Connaissant d'une part l'efficacité et la reproductibilité des méthodes automatiques par rapport aux méthodes manuelles, d'autre part l'inadaptabilité de certains équipements (surtout pour les formes sèches) au matériel de nettoyage automatique, il est envisageable de concevoir à l'avenir des équipements adaptés (ou seulement certaines parties), afin d'assurer une automatisation de lavage pour la majorité d'entre eux.

6. Utilisation d'agents de nettoyage

Les agents de nettoyage peuvent intervenir selon plusieurs mécanismes d'action (en plus de l'action mécanique liée à l'utilisation de brosses par exemple) : par dissolution, par action détergente (grâce aux surfactants) et/ou par réaction chimique (hydrolyse, oxydation ou réaction enzymatique) permettant la transformation des résidus en petites molécules facilement éliminées grâce à l'action détergente (-8-). Ils sont donc choisis en fonction des caractéristiques physico-chimiques des composés mais également selon la nature de la surface à nettoyer et le mode de nettoyage (les produits sont moins agressifs pour les méthodes manuelles).

Les détergents, contenant généralement plusieurs composés, sont employés lorsqu'ils sont réellement nécessaires (quand le lavage à l'eau est insuffisant, pour des raisons de solubilité du principe actif par exemple) car leur utilisation pose le problème de leur élimination à la fin du nettoyage. Le contrôle de l'élimination des détergents peut être réalisé par différentes méthodes d'analyse (-6-) :

- contrôles visuels ;
- contrôles physico-chimiques non spécifiques (de sensibilité connue) : pH, tension superficielle, conductivité ;
- contrôles spécifiques d'un composé : ils sont utilisés lorsqu'un des composés constituant l'agent de nettoyage est connu. Ils permettent d'extrapoler le résultat à l'ensemble des constituants du détergent pour évaluer la quantité totale d'agent en présence et ainsi l'efficacité d'élimination de tous ses composés ;
- contrôles spécifiques d'un agent de nettoyage : la méthode la plus précise serait celle permettant l'analyse de tous les composés du détergent, mais s'il est démontré que les différents composés sont éliminés de la même façon (proportionnellement), l'analyse se réduit à un seul d'entre eux (contrôle précédent).

Comme pour les autres contaminants (principes actifs, excipients...), un taux résiduel à ne pas dépasser est déterminé pour les détergents et cautionne le choix de leur méthode d'analyse (-9-). Les méthodes de prélèvement sont également semblables à celles présentées ultérieurement, avec une préférence pour la technique par rinçage.

7. Conclusion

Le nettoyage apparaît donc comme un moyen d'élimination, en fin de production, des composés présents sur les équipements pour éviter la contamination du lot suivant.

Afin d'écartier toute contamination croisée, il faut en plus du nettoyage pouvoir prévenir le risque de contamination au cours de la fabrication des médicaments en contrôlant la configuration des locaux et le flux des matières et du personnel.

III. LES DIFFERENTES METHODES DE PRELEVEMENT

La méthode est choisie selon :

- * le contaminant,
- * l'équipement,
- * le prélèvement : en fonction de sa facilité de mise en œuvre et de son rendement.

Il existe trois principales méthodes de prélèvement (-10-) :

- prélèvement de surface : par essuyage, écouvillonnage ou contact de la surface ;
- prélèvement par des solutions de rinçage ;
- fabrication d'un placebo.

Ces techniques seront comparées par la suite.

1. Prélèvement direct de surface

Pour les méthodes par prélèvement de surface, il est nécessaire d'avoir au préalable établi les différents points critiques, susceptibles d'être plus contaminés étant donnée la difficulté de nettoyage.

Ce type de méthode peut être utilisé pour tous les équipements et toutes les surfaces, quelle que soit leur nature, mais dans la limite de leur accessibilité.

1.1. Méthode par essuyage ou écouvillonnage

Cette technique est réalisée sur une surface généralement délimitée, donnant donc un résultat sous forme d'une quantité résiduelle pour cette aire.

Elle est difficilement standardisable compte tenu du manque de reproductibilité du prélèvement variant d'une personne à l'autre, mais également pour une même personne selon les forces de frottement exercées.

Le support de prélèvement est un tissu d'essuyage ou un écouvillon (sec ou humidifié avec de l'eau ou un solvant organique) avec lesquels la surface est frottée pour recueillir les résidus. Ces supports doivent, tout comme le solvant utilisé pour l'extraction, interférer le moins possible avec l'analyse du composé recherché ou selon une interaction facilement détectable, afin d'éviter toute dégradation et permettre une extraction aisée (-11-).

Avant l'analyse, les prélèvements doivent être protégés contre toute contamination et conservés de façon à éviter la dégradation des composés. Ils sont souvent maintenus dans des solvants et doivent être analysés le plus rapidement possible, la durée et la température de conservation des échantillons étant préalablement déterminées.

Si l'utilisation des supports est correctement définie et appliquée afin d'être la plus reproductible possible et si les prélèvements à réaliser sont déterminés avec logique en tenant compte de l'expérience en ce domaine, cette méthode est facilement mise en place et fiable pour de nombreux équipements de l'industrie pharmaceutique, mais elle reste cependant non applicable pour un certain nombre de matériels (du fait de leur configuration et leur inaccessibilité).

1.2. Méthode par contact

Cette technique est également réalisée sur une surface délimitée mais elle est plus facilement standardisable car la variabilité des résultats repose sur le temps de contact et la force appliquée.

Le support de prélèvement est une empreinte gélosée.

Cette méthode est utilisée pour évaluer la contamination microbienne. Ce type de contamination peut également être mesurée par écouvillonnage ou par solution de rinçage.

Afin de limiter ces variations pour les méthodes par prélèvement de surface, l'utilisation d'un gabarit (support découpé aux dimensions de la surface délimitée pour le prélèvement) permet tout d'abord d'avoir une surface de prélèvement constante. De plus, le protocole de prélèvement pourra alors définir, quelle que soit la méthode utilisée, le nombre de passages ainsi que leur direction et leur sens et le nombre de supports de prélèvement.

2. Prélèvement par solution de rinçage

La solution de rinçage est constituée par le rinçage final lors du lavage ou par une solution mise en contact avec l'équipement après le lavage.

Ce type de méthode ne peut être utilisé que pour les équipements conçus de manière à ce que le liquide puisse circuler et être en contact avec toute la surface, mais sans contrainte d'accessibilité. Cette technique est basée sur la solubilité du contaminant pour le solvant, qui doit dissoudre au maximum les résidus susceptibles de contaminer le lot suivant sans les dégrader ni endommager l'équipement.

Le prélèvement peut être effectué selon trois méthodes principales :

- * remplissage de l'équipement par la solution, suivi d'une agitation (pour assurer l'homogénéité de la solution surtout si celle-ci est une suspension) ou d'une circulation du liquide puis d'une vidange ;
- * trempage pendant un certain temps pour les pièces et les petits équipements ;
- * rinçage du matériel.

Quelle que soit la méthode, le volume de solvant à utiliser et le temps de contact avec l'équipement devront être préalablement définis. Des précautions particulières sont prises pour les équipements ne contenant pas habituellement de liquides afin que toute la surface en contact avec le produit soit rincée par la solution.

3. Méthode placebo

La méthode placebo consiste à effectuer des prélèvements réguliers (à des points stratégiques de la production) d'un placebo réalisé sur les mêmes équipements, après leur nettoyage, et dans les mêmes conditions que pour le contaminant recherché.

Le placebo est soit la formule exacte du produit sans le principe actif, soit la formule contenant un nombre limité d'excipients. Pour les formes liquides, le placebo est souvent de l'eau (de pureté différente selon qu'il s'agisse de produits stériles ou non) si la solubilité du contaminant le permet, sinon le placebo est réalisé avec le liquide de la formule initiale.

Cette technique ne peut être utilisée que pour certains équipements. Elle permet d'exposer le placebo aux différentes sources de contamination (et donc à l'accumulation des résidus), comme pourrait l'être le lot suivant le nettoyage.

Le problème de cette technique est l'hétérogénéité de distribution du contaminant dans l'équipement et donc dans le placebo : ainsi, il pourra être plus concentré dans les premiers placebos du lot si la contamination est plus élevée au niveau de la vanne de déchargement. Cette méthode peut alors être associée aux précédentes.

4. Comparaison des différentes méthodes de prélèvement

4.1. Avantages et inconvénients

Le tableau suivant répertorie les avantages et les inconvénients des trois principales méthodes de prélèvement.

Nature du prélèvement	Avantages	Inconvénients
<u>Prélèvement de surface</u>	<ul style="list-style-type: none"> - applicable à de nombreux équipements ou surfaces - les différents points de prélèvement permettent d'établir une cartographie afin d'évaluer l'hétérogénéité de la contamination et ainsi l'efficacité du nettoyage - coût peu élevé - analyse facilitée par le choix d'un solvant approprié - extraction la plus complète 	<ul style="list-style-type: none"> * Divers paramètres sont à calculer : <ul style="list-style-type: none"> - surface de l'équipement - interférence du support de prélèvement - rendement de prélèvement - rendement d'extraction * La méthode d'analyse doit être validée * Le choix des points de prélèvement est arbitraire et donc variable
<u>Solution de rinçage</u>	<ul style="list-style-type: none"> - facilité de mise en œuvre - pas de surface inaccessible : la surface est prise en compte en totalité - analyse directe à partir de la solution 	<ul style="list-style-type: none"> - pas de cartographie de la contamination - ne permet d'évaluer que la quantité de contaminant éliminé avec la solution - non utilisable pour tous les équipements - problèmes liés à la nature de la solution de rinçage
<u>Placebo</u>	<ul style="list-style-type: none"> - simulation des conditions réelles de fabrication - facilité de mise en œuvre 	<ul style="list-style-type: none"> - problème de répartition non homogène de la contamination - mise au point difficile pour certaines formes galéniques - coût élevé lié à l'immobilisation des équipements - pas de cartographie - problème pour le seuil de détection lié au risque de dilution trop importante

4.2. Applications

Le tableau suivant présente les applications des méthodes aux différents équipements utilisés en production (-6-).

Nature du prélèvement	Equipements pour formes solides	Equipements pour formes liquides	Equipements pour formes semi-solides
<u>Prélèvement de surface</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Appareils de détection des métaux - Presses et géluleuses - Mélangeurs rotatifs - Mélangeurs pour formes humides - Matériel servant à l'enrobage 	<ul style="list-style-type: none"> - Parties servant au remplissage - Cuves - Mélangeurs 	<ul style="list-style-type: none"> - Equipements pour les émulsions et les suppositoires (moules) - Homogénéisateurs - Mélangeurs
<u>Solution de rinçage</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Mélangeurs rotatifs - Mélangeurs pour formes humides - Cuves pour l'enrobage 	<ul style="list-style-type: none"> - Cuves - Emplacements des filtres 	<ul style="list-style-type: none"> - Tuyaux de circulation des produits - Mélangeurs - Pompes
<u>Placebo</u>	Tous les équipements	Tous les équipements	Tous les équipements

5. Conclusion

Les modes de prélèvement présentés offrent des intérêts diversifiés mais quelle que soit la méthode choisie, il est important de maîtriser la qualité du prélèvement afin qu'il ne soit pas lui-même à l'origine d'une contamination, surtout lorsque les équipements ne sont pas relavés avant de servir pour une nouvelle production.

IV. LES DIFFERENTES METHODES D'ANALYSE

Le passage de résidus d'un produit dans un autre au cours de sa production n'était à l'origine pas détectable mais les composés agissaient à de plus fortes doses et l'éventuelle contamination engendrait de moindres effets.

Actuellement, avec les progrès en terme de techniques analytiques, des quantités minimales de résidus présents sur les équipements de production peuvent être détectées, même après des nettoyages efficaces. De plus, les produits sont actifs à des doses de l'ordre du microgramme et l'objectif est alors de déterminer un critère d'acceptation en matière de quantité résiduelle.

L'évaluation de la quantité de contaminant présent sur l'équipement après nettoyage peut être réalisée par diverses méthodes qui doivent être sensibles et adéquates.

Il peut s'agir d'un simple contrôle visuel ou de techniques plus spécifiques analysant les contaminants d'origine chimique, microbiologique ou particulaire.

1. Contrôle visuel

Avant toute analyse quantitative, les équipements doivent être visuellement propres.

Cette observation peut être suffisante si elle est faite avec une source de lumière permettant de détecter des quantités de l'ordre de quelques microgrammes par cm^2 . En effet, pour des équipements spécifiques (affectés à un seul produit) ou des surfaces n'étant pas en contact direct avec les produits et pour des composés peu toxiques, l'absence de traces visibles de produit peut constituer un critère d'acceptation à lui seul.

Par contre, dans le cas d'équipements polyvalents (affectés à plusieurs produits), ce contrôle visuel n'est qu'un préalable à une méthode d'évaluation quantitative.

2. Traitement des prélèvements

Les prélèvements réalisés sur les équipements après leur nettoyage nécessitent un traitement préalable à leur analyse.

Il peut s'agir d'une mise en solution, d'une extraction, d'une concentration... Dans le cas d'une mise en solution, le solvant est choisi selon la nature et la solubilité du contaminant recherché.

Ainsi, le traitement des prélèvements pour les solutions de rinçage sera plus simple que pour un prélèvement de surface dans la mesure où la prise d'essai peut être directement analysée (ou après concentration de la solution).

En ce qui concerne le traitement des échantillons par la méthode placebo, il sera similaire à celui des analyses de routine.

3. Analyse des prélèvements

La méthode d'analyse est choisie selon divers paramètres propres à la technique :

- * sensibilité
- * seuil de détection (dépend du critère d'acceptation)
- * répétabilité
- * spécificité
- * linéarité
- * exactitude

Mais ce choix dépend également d'autres critères : de la nature du composé à analyser (solubilité, absorption UV...), de la facilité de mise en œuvre de la méthode, du matériel nécessaire, de son coût, de la méthode de prélèvement utilisée ainsi que de l'expérience spécifique à chaque entreprise.

3.1. Analyses physico-chimiques

Outre les techniques simples (qui présentent l'avantage d'être rapides) telles que la détermination des caractères organoleptiques, du pH, de la conductivité, du spectre UV-visible ou infrarouge ou un dosage acide/base, les méthodes les plus utilisées sont :

- * les méthodes chromatographiques : sur couche mince (CCM), en phase liquide (CLHP) ou en phase gazeuse (CPG),
- * les méthodes biochimiques : dosage enzymatique,
- * carbone organique total (COT) : méthode non spécifique car mesure sans distinction la quantité de carbone organique dans le prélèvement, après transformation en dioxyde de carbone.

Grâce à l'évolution des technologies, les résidus peuvent être détectés à de très faibles quantités. Cependant, lorsqu'ils ne sont pas détectés, il ne faut pas en conclure qu'ils sont absents mais qu'ils sont présents à des quantités non détectables (inférieures à la limite de détection de la méthode analytique) ou que la méthode de prélèvement n'est pas adaptée.

Il peut s'avérer intéressant de détecter, en plus du composé principalement recherché, ses produits de dégradation.

Le tableau suivant présente les différentes méthodes d'analyse avec leurs applications, leurs avantages et inconvénients surtout en ce qui concerne la sensibilité et le coût (-12-).

Méthodes d'analyse	Applications	Avantages	Inconvénients
<u>Contrôle visuel</u>	principes actifs et excipients dans certains cas	résultats immédiats	- non quantitatif - examen subjectif
<u>pH</u>	détergents	- rapide - peu coûteux - résultats immédiats	- pas spécifique - seulement utilisable pour les détergents solubles dans l'eau - sensibilité
<u>Conductivité</u>	détergents	- rapide - peu coûteux - résultats immédiats	- pas spécifique - sensibilité
<u>Electrophorèse</u>	produits d'origine biologique	- spécifique - sensible	- coût très élevé - complexe - problèmes pour les protéines dénaturées - long
<u>ELISA</u>	produits d'origine biologique	- spécifique - très sensible	- long - coût très élevé - complexe - problèmes pour les protéines dénaturées
<u>COT</u>	- principes actifs - excipients - détergents - produits biologiques	- large spectre - seuil de détection faible - résultats immédiats - facilité et rapidité de mise en oeuvre	- pas spécifique - seulement pour les prélèvements solubles dans l'eau
<u>Spectrophotométrie (UV)</u>	- principes actifs - excipients - produits biologiques	- spécifique - très sensible - méthode d'identification	non quantitatif

Méthodes d'analyse	Applications	Avantages	Inconvénients
<u>CCM</u>	- principes actifs - excipients	- très spécifique - sensible - peu coûteux	- non quantitatif - préparation longue
<u>CLHP</u>	- principes actifs - excipients - produits biologiques	- très spécifique - sensible - quantitatif	- temps d'analyse - coût très élevé

3.2. Analyses microbiologiques

Les méthodes d'analyse microbiologique permettent d'évaluer le niveau de contamination microbiologique d'une surface. Il existe de nombreuses techniques :

- * incubation d'une gélose : le prélèvement est réalisé par contact ou grâce aux solutions de rinçage ;
- * filtration sur membrane : pour les échantillons liquides ;
- * ensemencement direct : pour les échantillons liquides ou solides ;
- * test LAL : surtout pour les formes stériles ;
- * bioluminescence : méthode semi-quantitative ;
- * épifluorescence : méthode quantitative.

3.3. Analyses particulières

Ce type de méthodes permet de réaliser :

- * un comptage particulaire, c'est-à-dire une évaluation quantitative des particules sur une surface, grâce à un compteur particulaire à source laser infrarouge. Ce dénombrement est applicable aux surfaces planes, sèches et non rugueuses.
- * une identification par microscopie à balayage ou par spectrométrie.

V. RECOMMANDATIONS DE LA FDA POUR LES VALIDATIONS DE NETTOYAGE

1. Introduction

Historiquement, les inspecteurs de la FDA (Food and Drug Administration) se sont intéressés au problème de la validation de nettoyage à l'issue d'incidents, notamment en ce qui concerne les produits à base de pénicillines, de stéroïdes ou d'hormones et le risque que comporterait la contamination croisée de tels principes actifs.

Un des événements les plus notables fut en 1988 la contamination de la Cholestyramine par des résidus d'insecticides. Ces deux composés étaient synthétisés par la même usine qui n'avait pas validé la procédure de nettoyage de cuves servant au stockage de solvants récupérés à la fois de la production d'insecticides et de Cholestyramine.

Par la suite en 1992, la FDA s'intéressa à une usine utilisant des installations communes pour la fabrication de produits stéroïdiens et non stéroïdiens : elle considéra alors que le potentiel de contamination croisée posait un risque sérieux de santé publique et que la validation de nettoyage réalisée était insuffisante.

C'est ainsi que la FDA se préoccupa sérieusement des procédés de validation de nettoyage dès les années 90 et rédigea en 1993 un guide à l'usage de ses inspecteurs (-13-) spécifiquement axé sur la validation du nettoyage et les grandes lignes d'une telle démarche.

2. Recommandations prescrites par la FDA

2.1. Procédures

La FDA recommande des procédures écrites pour les différentes méthodes de nettoyage en précisant clairement la technique à employer au cas par cas (que ce soit entre deux lots du même produit où un contrôle visuel pourra s'avérer être suffisant ou entre deux produits différents par exemple). Quand certaines étapes du nettoyage s'avèrent être plus

déliçates (au regard d'éventuels résultats indiquant des valeurs résiduelles plus élevées ou très variables), la procédure devra insister sur ces difficultés.

En ce qui concerne la validation de nettoyage, elle exige également des procédures à respecter sur lesquelles seront mentionnées les personnes rédactrices et approbatrices du document, les critères d'acceptation et la date de validité de la validation. Au terme de chaque validation sera rédigé un rapport de validation où seront répertoriés les résultats des analyses qui conduiront à l'approbation ou au rejet de la procédure de nettoyage.

2.2. Nettoyage et stockage du matériel

La configuration des équipements doit être clairement définie et connue des opérateurs chargés du nettoyage dont le mode peut varier : il peut être entièrement automatisé, semi-automatique ou manuel ; il peut s'agir de nettoyage en place (NEP) ou en dehors des locaux contenant habituellement le matériel.

Il est impératif que le personnel effectuant le nettoyage soit qualifié et entraîné pour ce type d'opérations.

Lors de ces opérations, le risque de contamination microbologique doit être pris en compte par des mesures essentiellement préventives : ni le nettoyage ni le stockage du matériel propre ne doivent occasionner une contamination microbologique. Il s'agit alors de mesures simples qui consistent par exemple à s'assurer du séchage du matériel avant qu'il ne soit stocké ou encore de l'absence d'eau durant le stockage.

Mais il peut s'agir de mesures plus strictes pour la fabrication de produits stériles : les équipements sont alors soumis à une stérilisation ou désinfection selon des procédés assurant la destruction ou l'inactivation de façon satisfaisante et durable des microbes.

VI. CONCLUSION

Cette étude montre que l'activité de nettoyage et sa validation font partie intégrante des procédés de production : il appartient alors à chaque entreprise d'élaborer sa propre méthodologie de validation en fonction de ses activités.

La démarche s'avère souvent complexe et longue mais elle apparaît indispensable pour assurer la qualité des médicaments qui passe avant tout par une fabrication avec des équipements et des locaux propres.

La partie suivante présente une démarche de validation de nettoyage, suivie dans le cadre d'un stage pour les laboratoires Bristol-Myers Squibb. Cette expérience a été menée dans le domaine des formes sèches pour des principes actifs utilisés pour la fabrication de comprimés.

EXEMPLE DE VALIDATION DE
NETTOYAGE : CONTROLE DE
L'ABSENCE DE RESIDUS DE
NADOLOL

I. PRESENTATION

1. Bristol-Myers Squibb (B.M.S.) en quelques chiffres

- ◆ au niveau mondial : ✓ 50 filiales : Etats-Unis, Amérique du Sud, Europe (France, Italie, Espagne, Irlande prochainement), Afrique, Asie et Australie.
 - ✓ 16,7 milliards de dollars de chiffre d'affaires.

- ◆ au niveau France : ✓ cinq sites :
 - Paris (La Défense) : siège social
 - Epernon : usine de production
 - Fontenay : centre de distribution
 - Meymac : usine de production
 - Saint-Nazaire : centre de recherche
 - ✓ 4,7 milliards de dollars de chiffre d'affaires.

2. Secteurs d'activité

- ◆ médicaments dans divers domaines thérapeutiques :
 - cardiologie (Lopril[®])
 - oncologie (Taxol[®])
 - infectiologie (Oracéfal[®]) : secteur dominant
 - neurologie (Buspar[®])
 - virologie (Zérit[®], Videx[®])
 - antalgie avec UPSA

- ◆ produits de nutrition avec Mead Johnson
- ◆ matériel médical avec Convatec, Westwood et Zimmer
- ◆ cosmétologie avec Clairol

3. Site de Meymac

Principal groupe pharmaceutique mondial, B.M.S. est implanté depuis 1990 à Meymac au cœur de la Haute Corrèze à l'orée du plateau de Millevaches.

En quelques années, le site a vu tripler son effectif et doubler sa surface de production.

Produisant à son origine seulement trois spécialités (Buspar[®], Mucomyst[®] et Questran[®]), il assure en plus aujourd'hui, de part notamment le plan de restructuration (fermeture de certains sites : Allemagne, Angleterre), la fabrication de : Angettes[®], Corgard[®] et Corgaretic[®], Ipral[®], Pronestyl[®], Quantalan[®], Sotalex[®] et Sotacor[®], Sulparex[®], Videx[®], Zérit[®] (cf tableau suivant : spécialités produites sur le site de Meymac).

La diversité et le volume de production du site le propulsent ainsi à l'échelle européenne.

Principes actifs	Spécialités	Dosages	Formes galéniques	Classes thérapeutiques
Aspirine	Angettes	75 mg	Comprimés	Antiagrégant plaquettaire
Buspirone	Buspar	5 et 10 mg	Comprimés	Anxiolytique
Cholestyramine	Questran Quantalan	4 g 4 g	Sachets Sachets	Hypolipidémiant
Didanosine	Videx	25,50,100,150 et 200 mg	Comprimés	Antirétroviraux
N-acétylcystéine	Mucomyst	200 mg 100 et 200 mg	Sachets Poudre pour suspension buvable	Fluidifiant bronchique
Nadolol	Corgard Solgol	40 et 80 mg blanc 40 et 80 mg bleu 60 et 120 mg	Comprimés Comprimés	β -bloquant
Nadolol + péndo-fluméthiazide	Corgaretic Sotaziden	40/5 mg et 80/5 mg 60/5 mg	Comprimés Comprimés	β -bloquant + diurétique
Procainamide	Pronestyl	250 mg	Comprimés	Antiarythmique (stabilisant de membrane)
Sotalol	Sotacor Sotalex Sotalol	80 et 160 mg 40, 80, 160 et 320 mg 160 et 320 mg	Comprimés Comprimés Comprimés	β -bloquant
Zidovudine	Zérit	15, 20, 30 et 40 mg	Gélules	Antirétroviraux
Halopéridol	Sulparex	200 mg	Comprimés	Neuroleptiques
Triméthoprime	Ipral	100 et 200 mg	Comprimés	Antibactérien à visée urinaire

II. INTRODUCTION

Au cours du stage, plusieurs méthodes de dosage ont été validées, pour la limite d'acceptation calculée en vue de la validation de nettoyage, pour les principes actifs suivants :

- Nadolol,
- Procaïnamide (pour lequel la méthode de dosage par CLHP a été créée),
- Sotalol,
- Sulpiride (choisi pour sa faible solubilité dans l'eau).

Il ne sera présenté ici que la validation du Nadolol, pour lequel il a été mené le travail le plus complet en ce qui concerne la validation du nettoyage.

En effet, la validation du nettoyage pour le chlorhydrate de Procaïnamide et le Sulpiride n'a pas été entamée du fait de la fréquence de production des comprimés de PRONESTYL[®] et de SULPAREX[®]. Quant au chlorhydrate de Sotalol (production fréquente), la validation de nettoyage a débuté mais n'a pas été menée jusqu'à son terme.

Remarque : la validation de nettoyage ne prend ici en compte que les principes actifs (pas les excipients et le lavage n'utilise pas de détergents).

III. LE NADOLOL

1. Caractéristiques physico-chimiques

Le Nadolol se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche à blanc cassé, pratiquement inodore.

Solubilités (-14-, -15-) :

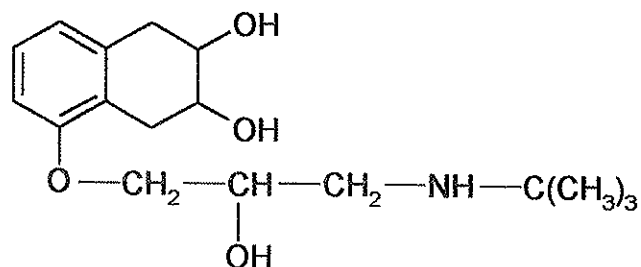
- facilement soluble dans l'alcool et le propylène glycol
- légèrement soluble dans le chloroforme
- insoluble dans l'acétone, le benzène et l'éther.

Formules chimiques (-16-) :

- formule brute : $C_{17}H_{27}NO_4$
- nom chimique :

2,3-Cis-1,2,3,4-tétrahydro-5[2-hydroxy-3(tert-butylamino)propoxy]-2,3-naphtalène diol

- formule développée :



Nadolol

2. Spécialités B.M.S. ayant pour principe actif le Nadolol

◆ **CORGARD[®]** (France) : existe en comprimés blancs et bleus (Sanofi), les deux étant dosés à 40 et 80 mg. Ce médicament est classé en liste I.

◆ **SOLGOL[®]** (Allemagne) : existe en comprimés dosés à 60 et 120 mg

◆ En association avec la Bendrofluméthiazide (dosée à 5 mg) :

- **CORGARETIC[®]** : 40 et 80 mg
- **SOTAZIDEN[®]** : 80 mg

Les divers spécialités ou dosages à base de Nadolol sont fabriqués de manière différente :

- soit par granulation par voie humide utilisant un granulateur (Fielder) et un sécheur (Aéromatic),

- soit par granulation par voie sèche faisant appel à un compacteur.

C'est pourquoi les prélèvements seront réalisés sur ces différents équipements.

3. Propriétés thérapeutiques

Le Nadolol est une molécule à visée cardiovasculaire faisant partie de la classe des β -bloquants et caractérisée par l'absence d'activité β_1 cardiosélective (-17-).

Indications : il est indiqué dans les cas suivants :

- hypertension artérielle ;
- prophylaxie des crises d'angor d'effort ;
- signes fonctionnels des cardiomyopathies obstructives ;
- manifestations cardiovasculaires des hyperthyroïdies ;
- traitement de certains troubles du rythme supraventriculaires (tachycardies, flutters et fibrillations auriculaires, tachycardies jonctionnelles) ou ventriculaires (extrasystole ventriculaire, tachycardies ventriculaires).

Contre-indications (absolues):

- au niveau pulmonaire : asthme et bronchopneumopathies chroniques obstructives ;
- au niveau cardiaque :
 - insuffisance cardiaque non contrôlée par le traitement,
 - choc cardiogénique,
 - blocs auriculoventriculaires,
 - angor de Prinzmetal,
 - maladie du sinus,
 - bradycardie ;
- syndrome de Raynaud et troubles artériels périphériques ;
- phéochromocytome non traité ;
- hypotension ;
- hypersensibilité au Nadolol ;
- antécédent de réaction anaphylactique.

Interactions (contre-indiquées) : Floctafénine et Sultopride.

Effets indésirables (au plan clinique): le plus souvent, les effets secondaires observés sont :

- asthénie ;
- refroidissement des extrémités ;
- bradycardie ;
- troubles digestifs : gastralgies, nausées, vomissements ;
- impuissance.

IV. PROTOCOLE DE VALIDATION DE NETTOYAGE

Une fois rédigé, le protocole de validation de nettoyage est vérifié (par le responsable développement), contrôlé (par le responsable production) et approuvé (par le responsable contrôle qualité).

1. Objectif

Validation du nettoyage des équipements et des locaux utilisés pour la fabrication des produits ayant comme principe actif le Nadolol.

2. Conditions opératoires

Peu de lots contenant du Nadolol sont fabriqués dans l'année, c'est pourquoi les essais de nettoyage se feront après n'importe quel dosage (40, 60, 80 ou 120 mg).

Pour calculer la surface en contact avec le principe actif, il a été pris en compte la technique par granulation par voie humide et les calculs ont donc été faits avec le dosage le plus élevé soit le 120 mg, qui correspond au cas le plus défavorable.

3. Equipements et locaux

3.1. Qualification

La qualification d'un matériel consiste à apporter la preuve que celui-ci est installé et fonctionne de manière reproductible, conformément à des spécifications préétablies.

Avant la validation, l'équipement suivant, utilisé pour le nettoyage du matériel, devra être qualifié : cabine de lavage.

3.2. Equipements et locaux à nettoyer

Tout le matériel est polyvalent :

- Centrale de pesée manuelle
- Tamiseur vibrant Satil
- Granulateur Fielder PMA 400
- Sécheur Aéromatic S5
- Calibreur Frewitt (un dans la salle du Fielder et un dans la salle de l'Aéromatic)
- Presse Fette P 2100 ou P 2000 et périphériques
 - . Dépoussiéreur Gratex
 - . Métalcheck (détecteur permettant d'éliminer les comprimés comportant des défauts)
 - . Tapis élévateur
 - . Néotainer (fût de réception)
- Compacteur
- Cuve de 600 L
- Cuve de 1000 L
- Blistéreuses Win.Pack et Uhlmann

3.3. Nettoyage

Il se fera selon les procédures en vigueur suivantes qui définissent la fréquence des nettoyages ainsi que les méthodes appliquées :

- M-I-A-11-06 « Nettoyage du matériel de fabrication atelier granulation/compression »
- M-I-A-11-09 « Nettoyage des locaux de fabrication atelier granulation/compression »
- M-I-A-12-09 « Granulateur fielder PMA 400 et 600 »
- M-I-A-12-20 « Presse à comprimer Fette P 2100 »
- M-I-A-12-22 « Compacteur Alexanderwerk »
- M-I-A-12-25 « Utilisation du tamiseur Satil »
- M-I-A-12-32 « Calibreur Frewitt »
- M-I-A-12-33 « Presse à comprimer P 2000 »
- M-I-A-12-34 « Sécheur Aéromatic de type S5 »

Une copie des procédures ainsi que des documents d'enregistrement des opérations de nettoyage sera jointe au dossier de validation.

Pour ce qui concerne le site et le matériel en présence, le nettoyage est réalisé :

- de manière automatique, dans une cabine de lavage utilisant de l'eau chaude pour les containers et
- de manière manuelle avec de l'eau et de l'alcool après démontage des pièces pour les autres équipements.

4. Méthode de prélèvement

Après le nettoyage de l'équipement, les surfaces déterminées sont prélevées afin d'en évaluer la propreté.

La méthode de prélèvement est choisie en fonction du contaminant recherché, de l'équipement, de la facilité de sa mise en œuvre et du rendement de prélèvement.

Pour l'étude menée ici, il a été choisi une méthode par essuyage (dite « swab ») d'une surface de prélèvement déterminée :

- la surface de prélèvement doit être suffisante pour que la quantité de substance éventuellement récupérée entre dans les limites de détection voire de quantification de la méthode analytique : la surface est délimitée à un carré 10*10 cm et respectée grâce à l'utilisation d'un gabarit découpé aux dimensions.

- le support de prélèvement doit être le plus inerte possible : le choix du support s'est porté sur des gazes (5*5 cm) préparées et utilisées selon une procédure établie. Les gazes (en coton) ne doivent pas laisser de fibres sur l'équipement, doivent être compatibles avec le principe actif sans le dégrader et en permettant son extraction pour l'analyse.

L'éventuelle influence de la gaze est déterminée lors de la validation du dosage avec l'étude de l'interaction entre la gaze et le principe actif.

- le solvant utilisé pour la reprise des gazes est choisi en fonction des caractéristiques du principe actif. Le solvant doit permettre de solubiliser le composé sans le dégrader.

Les prélèvements seront traités selon une méthode définie et optimisée lors de l'étude de l'exactitude de la méthode de dosage au cours de laquelle il a été déterminé le rendement de récupération (lors de l'analyse, il sera recherché uniquement le principe actif).

Entre le prélèvement et l'analyse, les gazes doivent être protégées contre toute contamination ou dégradation des résidus prélevés : dans le cas présent, elles sont immédiatement déposées dans des flacons à usage unique puis reprises par le solvant et analysées le plus rapidement possible.

Compte tenu de l'hétérogénéité d'une éventuelle contamination mais aussi du facteur peu reproductible d'un nettoyage manuel et du prélèvement, il s'avère nécessaire d'effectuer plusieurs séries de prélèvements sur un même équipement : dans ce cas, trois séries seront réalisées.

Le nettoyage variant pour une même personne et d'une personne à une autre il peut alors être intéressant de réaliser les séries de prélèvements après nettoyage par différents opérateurs.

5. Validation

5.1. Procédure

Après un nettoyage complet, des prélèvements sont réalisés sur les pièces de chaque équipement, selon le tableau (6.) où les endroits les moins accessibles et susceptibles d'être des sources de contamination sont répertoriés.

Sur les pièces de chaque équipement les tests suivants seront effectués :

- un contrôle visuel afin de vérifier l'absence de poudre,
- le prélèvement et l'analyse de trois séries.

5.2. Critères d'acceptation

- Le matériel nettoyé devra être visuellement propre.
- Un objectif limite à 0,9 mg par prélèvement de principe actif sera recherché (cf 7.).

6. Détail des équipements à prélever

Le choix des équipements prend en compte l'ensemble du procédé de fabrication et des surfaces communes à deux produits.

Dans le tableau suivant sont répertoriés les différents éléments intervenant dans la production de comprimés de Nadolol et devant être prélevés :

OPERATIONS	MATERIEL UTILISE		Matériel en contact avec le produit	Matériel sans contact avec le produit
PESEES	Tamiseur Satil : Transfert mélange : Local :	Corps Grille Goulotte Cheminée d'alimentation Cuve de 600 L Cuve de 1000 L Mur et sol	+ + + + + +	+
GRANULATION	Fielder PMA 400 : (cf annexe 1 et 3) Frewitt : Local :	Intérieur de la cuve Vanne de déchargement Grille Intérieur du bâti Mur et sol	+ + + +	+
SECHAGE	Aéromatic S5 : (cf annexe 2 et 3) Local :	Intérieur de la cuve Paroi intérieure Bol Mur et sol	+ + +	+
COMPACTAGE	Compacteur Alexanderwerk : (cf annexe 4) Vacumax : Local :	Trémie poudre Vis d'alimentation Rouleaux Grille du granulateur oscillant Cône Bâti Cheminée d'alimentation Vannes Corps Lèvre ou clapet Couvercle Mur et sol	+ + + + + + + + + +	+ +

Le compacteur n'est utilisé sur le site que pour certains produits fabriqués en granulation par voie sèche.

Les presses servent souvent pour la fabrication alternative de comprimés de principes actifs différents. Le nettoyage restant manuel, il est difficile de connaître sa reproductibilité et il est donc indispensable de le valider.

La majorité des formes sèches est conditionnée sous blisters faisant intervenir deux types de machines : WinPack ou UPS.

7. Calcul de l'aire de la surface de l'équipement

Rappels de formules d'aires :

➡ cylindre :

- sans couvercle ni fond : $S_1 = \pi * D * H$

- avec fond : $S_2 = S_1 + \pi * R^2$

➡ parallélépipède : $(2 * l * H) + (2 * L * H)$

➡ trapèze : $H * (l + L) / 2$ avec $l = \pi * d$ et $L = \pi * D$ pour la cuve du Fielder, la cuve de réception et le bol de l'Aéromatic.

➡ rectangle : $H * L$

L'aire totale de la surface de l'équipement est déterminée en mesurant les dimensions des différents éléments de production en contact avec le produit.

Le détail du calcul de l'aire de l'équipement utilisé pour la fabrication de comprimés de Nadolol par granulation humide est présenté dans le tableau suivant :

EQUIPEMENT	Hauteur (m)	Diamètre ou longueur (m)	Surface (m²)
Tamiseur (cylindre + fond)	0,80	D=0,50	1,453
Goulotte (cylindre creux)	2,80	D=0,25	2,199
Fielder : cylindre + fond	0,30	D=1,00	1,728
trapèze	0,30	d=0,70 D=1,00 / l=2,20 L=3,14	0,801
Frewitt (parallépipède)	0,70	l=0,30 L=0,50	1,120
Cuve réception (trapèze + fond)	0,50	d=0,77 D=1,10 / l=2,42 L=3,46	1,934
Aéromatic (cylindre creux)	0,70	D=1,10	2,419
Bol (trapèze + fond)	0,60	d=0,20 D=1,10 / l=0,63 L=3,46	1,257
Frewitt (parallépipède)	0,70	l=0,30 L=0,50	1,120
Goulotte (cylindre creux)	2,40	D=0,25	1,885
Vannes (cylindre creux)	0,85	D=0,25	0,668
Magasin (trapèze)	0,50	l=0,10 L=0,25	0,088
Fillomatic (cylindre + fond)	0,20	D=0,13	0,095
Container 1000 L (au total)			5,297
parties inférieure et supérieure 8 trapèzes de 2 dimensions)	0,549	l=0,25 L1=1,00 L2=0,80	2,525
partie centrale (4 rectangles de 2 dimensions)	0,770	L1=1,00 L2=0,80	2,772
		SURFACE TOTALE	22,064

8. Calcul de la limite de Nadolol par prélèvement

De part la méthode de prélèvement choisie, la limite est une valeur exprimée en quantité de principe actif par gaze.

Selon la « validation guideline PSV-VG-F21 » du 30 Juillet 1994, la limite d'acceptation, qui sera par la suite le critère d'acceptation de la validation de nettoyage, est définie par :

$$\alpha_s = \frac{(S_L) (S_F) (\text{Batch}_{\min}) (\text{Swab}_s) \times 100}{(E_s) (\text{Dose}_{\text{Max}})}$$

avec les paramètres suivants :

- ◆ α_s = limite de Nadolol/gaze en mg
- ◆ S_L = limite de sécurité recommandée en mg/patient/jour = **1**
 S_L est une valeur déterminée et inscrite sur une liste de limites de sécurité. Dans le cas où ce paramètre pour un principe actif donné ne figure pas sur la liste, il convient de calculer α_s par une autre méthode (cf annexe 6).
- ◆ S_F = facteur de sécurité = **1/100** (plus haut facteur de sécurité)
- ◆ Batch_{\min} = plus petite taille de lot fabriquée sur l'équipement en kg = **138**
- ◆ Swab_s = superficie de prélèvement en cm^2 = **100** (les prélèvements sont réalisés sur une surface 10*10 cm)
- ◆ E_s = surface de l'équipement en m^2 = **22,064** (voir tableau précédent)

◆ $Dose_{max}$ = dose maximale par jour convertie en masse (en mg) de mélange (principe actif + excipients) du dosage choisi pour le calcul (la spécialité pouvant exister sous plusieurs dosages)

= 120 mg de principe actif, soit **690** mg de mélange à 120 mg

La limite est donc égale à :

$$\alpha_s = \frac{1 \times 1/100 \times 138 \times 100 \times 100}{22,064 \times 690} = \mathbf{0,906 \text{ mg/swab}}$$

Remarque : pour faciliter les calculs et les éventuelles dilutions, la validation du dosage sera réalisée en prenant une limite à 1 mg/swab, tout en prenant en compte $\alpha_s = 0,906$ mg/swab comme critère d'acceptation pour la validation du nettoyage.

V. VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE

La méthode d'analyse doit être validée et suffisamment sensible. Elle est choisie selon les critères suivants :

- sensibilité
- spécificité
- seuils de détection et de quantification
- répétabilité
- linéarité
- exactitude

De part sa spécificité, un seuil de détection satisfaisant et la précision de la quantification, la méthode proposée le plus souvent pour l'analyse des prélèvements pour une méthode par essuyage est un dosage par CLHP (chromatographie liquide haute performance). Ce dosage permet d'évaluer la quantité de principe actif par prélèvement.

1. Introduction : quelques rappels analytiques en CLHP

La chromatographie liquide haute performance, comme toute méthode chromatographique, permet la séparation de composés fondée sur les différences de distribution des espèces entre deux phases non miscibles :

- la phase stationnaire : liquide ou solide
- la phase mobile : liquide en CLHP.

L'équilibre établi peut être décrit au moyen d'une constante dépendant de la température : le coefficient de partage correspondant à la distribution du soluté entre la phase stationnaire et la phase mobile.

Les différences d'affinité des divers constituants d'un mélange pour chacune des deux phases impliquent des variations de vitesse de migration des composés et donc une possibilité de les séparer.

En CLHP, la migration se fait par élution dans des conditions de distribution régulière (les composés à séparer étant présents en faible concentration dans les solutés) : les substances, après avoir été déposées au sommet de la colonne, sont entraînées par la phase mobile hors de la phase stationnaire pour être identifiées dans l'éluat.

Pour étudier la répartition des substances entre les deux phases, deux théories sont proposées pour rendre compte de l'aspect quantitatif de cette distribution au cours de la migration et ainsi permettre de mettre en évidence les principaux paramètres à modifier pour trouver les conditions optimales d'analyse :

■ la théorie des plateaux (-18-) : cette théorie considère la colonne chromatographique comme une série de couches horizontales appelées plateaux théoriques dans chacun desquels s'établit un équilibre du soluté entre la phase stationnaire et la phase mobile.

La migration du soluté et du solvant est ainsi réalisée par une suite d'équilibres d'un plateau à l'autre, l'efficacité de la séparation chromatographique augmentant avec le nombre d'équilibres réalisés et donc le nombre de plateaux théoriques (N).

Pour décrire l'efficacité de la séparation et par conséquent de la colonne, un deuxième paramètre est défini : la hauteur équivalente à un plateau théorique (H), qui correspond au rapport de la longueur de la colonne par le nombre de plateaux théoriques.

Ces deux paramètres, H et N, caractérisent la colonne et dépendent de :

- la nature des phases
- la géométrie de la colonne
- tous les facteurs influençant les équilibres des solutés entre les deux phases.

La phase mobile, additionnée de façon continue au sommet de la colonne (remettant ainsi en cause, au cours de l'élution, les équilibres établis), permet la sortie du soluté de la colonne afin qu'il soit mis en évidence par un détecteur transmettant un signal dont le tracé constitue le chromatogramme.

La théorie des plateaux rend compte :

- de l'allure approximativement gaussienne des pics,

- de l'élargissement des pics, sans en détecter les causes,
- de l'efficacité de la colonne, sans renseigner sur les facteurs

intervenant sur les deux paramètres H et N.

■ la théorie cinétique : cette théorie explicite les différentes causes d'élargissement mesuré par la variance globale résultant de trois contributions indépendantes (injection, colonne, détection).

Les contributions à la valeur de H de chaque facteur d'élargissement au cours de la migration sur la colonne conduisent à une équation de Van Deemter dont les courbes représentatives diffèrent par :

- la granulométrie des phases stationnaires,
- la nature des solutés et des solvants.

Afin de s'affranchir des paramètres précédents, l'équation de Van Deemter peut s'exprimer de façon simple (équation de Knox) en utilisant les grandeurs réduites correspondantes (sans dimension). Ces grandeurs permettent de plus la comparaison de phases stationnaires de nature et de diamètre des particules différents, afin d'évaluer leur efficacité et donc leur résolution.

Les facteurs d'élargissement des pics sont :

- *la dispersion des solutés par diffusion longitudinale* dans la phase mobile. La diffusion est limitée dans les liquides, atténuée quand la pression est élevée et par le remplissage de la colonne mais elle augmente à vitesse réduite faible de phase mobile.

- *l'anisotropie d'écoulement par diffusion turbulente*. La diffusion est modifiée par l'écoulement irrégulier de la phase mobile à travers les particules de phase stationnaire, résultant des cheminements diversifiés en direction et en grandeur. Elle dépend donc de la régularité de remplissage de la colonne et de l'homogénéité de granulométrie des particules : c'est un bon indice de la qualité du remplissage.

- *la résistance au transfert de masse* par retard à l'établissement des équilibres de répartition selon la position des solutés. La dispersion de la bande résulte du fait que, durant le temps moyen de séjour dans la phase stationnaire, certaines molécules de soluté demeurent dans la phase mobile et y parcourent une certaine distance.

La chromatographie liquide haute performance est ainsi une méthode d'analyse de première importance permettant la séparation des constituants d'un mélange et leur

identification par leur temps de rétention (par comparaison avec un témoin) mais aussi la mise en évidence d'impuretés ou de produits de dégradation.

Au niveau des médicaments, elle présente donc de nombreux intérêts et applications, notamment dans le contrôle analytique :

- des matières premières : identification, recherche des substances apparentées.
- en cours de fabrication : recherche de produits de transformation, évaluation de l'efficacité d'un mélange (par analyse de prélèvements en différents points du mélange).
- des produits finis : dosage des principes actifs dans la forme galénique, par comparaison de la surface du pic chromatographique du composé séparé avec celui d'un ou plusieurs standards.
- études de stabilité dans le temps : recherche des produits de dégradation après conservation de la forme galénique dans différentes conditions (de température et d'humidité).

2. Conditions opératoires

Les paramètres du dosage peuvent être établis à partir de ceux définis pour le contrôle de la matière première ou du produit fini. Dans le cas où le dosage ne se fait pas par CLHP (technique de référence ici choisie pour l'analyse des prélèvements), les conditions devront être totalement établies et validées.

Une fois les conditions définies, un mode opératoire pour la recherche du composé est rédigé, vérifié et approuvé. Lors d'une revalidation, il sera alors impératif de mettre à jour ce mode opératoire si certains paramètres ont changé.

2.1. Appareillage

Le système chromatographique utilisé dépend du principe actif recherché et de l'appareil sur lequel il est habituellement dosé.

La validation du dosage du Nadolol par CLHP puis ultérieurement l'analyse des prélèvements pour la validation du nettoyage est réalisée sur la chaîne Varian-Jasco constituée de :

- la pompe 9012,
- l'injecteur automatique 9100,
- le détecteur Jasco UV 875 (à longueur d'onde variable),
- le four et
- le logiciel STAR.

2.2. Paramètres chromatographiques

◆ Colonne : en acier Hewlett Packard, de 12,5 cm de longueur et 4 mm de diamètre, remplie par du Lichrospher 60 RP-select B (5 μ m).

Lot L 165018 n°714313.

◆ Phase mobile (sur deux voies) :

- Méthanol : 35%

- Mélange aqueux HCl 0,00005M/NaCl 0,05M : 65%

◆ Débit : 0,5 mL/min

◆ Longueur d'onde : 220 nm

◆ Température : 40°C

◆ Volume injecté: 5 μ L

◆ Temps de rétention du Nadolol (à titre indicatif, dans les conditions présentes) : autour de 4 minutes.

2.3. Préparation des solutions

2.3.1. Préparation de la phase mobile

La phase aqueuse est préparée en ajoutant, dans une fiole jaugée de 2 L contenant de l'eau, 1 mL d'acide chlorhydrique 0,1N et 5,84 g de chlorure de sodium. Agiter et compléter au volume avec de l'eau.

2.3.2. Préparation des solutions standards

- Standard utilisé : Nadolol code 60052, lot 847569.

- Solutions standards : la solution standard de travail est préparée à la concentration de 0,1 mg/mL, correspondant à 1,0 mg/gaze qui est la limite d'acceptation pour le Nadolol dans les conditions présentes (cf protocole de validation).

Dans une fiole jaugée de 100 mL, introduire environ 200 mg exactement pesés de Nadolol de référence et compléter au volume avec de l'éluant. Agiter pour dissoudre, introduire 5 mL de cette solution dans une fiole jaugée de 100 mL, compléter au volume et mélanger.

Ces solutions sont filtrées à l'aide d'un système filtre seringue en utilisant des filtres Gelman 0,45 μm avant l'analyse.

2.3.3. Préparation des échantillons

- Gazes utilisées : Sofabel 10*10 cm, 16 épaisseurs, 17 fils.

Ces gazes sont découpées en carrés de 5*5 cm (4 épaisseurs) qui sont lavés à l'eau déminéralisée puis éponnés afin d'être légèrement humides.

- Echantillons : les gazes sont reprises avec 10 mL d'éluant et mises aux ultrasons 10 minutes puis sous agitation (300 tours/min) pendant 15 minutes. Ces solutions sont filtrées avant l'analyse.

3. Validation de la méthode de dosage

3.1. Définitions

L'évaluation des paramètres de la méthode de dosage fait appel à des valeurs définies par :

- moyenne = somme des valeurs/nombre de ces valeurs.
- écart-type : correspond à l'écart des différentes valeurs par rapport à la moyenne.
- CV = écart-type*100/moyenne.
- intervalle de confiance : correspond à un intervalle centré sur la moyenne et dans lequel sont comprises toutes les valeurs.
- facteur de réponse = surface/pesée.
- recouvrement = résultat (en g) / pesée (en g).

Ces calculs sont possibles grâce à une valeur de base calculée par l'appareil : la surface du pic chromatographique du Nadolol.

3.2. Spécificité

3.2.1. Définition

La spécificité est déterminée afin de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser, pour assurer que le produit à identifier ne coélue pas avec d'autres substances (excipients ou solvants de dissolution).

3.2.2. Préparation des solutions

Le but est ici de s'assurer de l'absence d'interaction entre la gaze et le Nadolol.

Une solution mère à 0,1 mg/mL (cf préparation standards) est répartie dans 12 petits flacons à usage unique : six ne contiennent que la solution et six contiennent une gaze humidifiée. Les solutions sont mises à agiter puis filtrées.

3.2.3. Résultats

Les résultats sont présentés dans le tableau 1 :

ESSAIS SANS GAZE	SURFACES
Essai 1	1799688
Essai 2	1811128
Essai 3	1766555
Essai 4	1797797
Essai 5	1795201
Essai 6	1789401

SANS GAZE	
Moyenne	1793295
Ecart-type	14920
CV (%)	0,83

ESSAIS AVEC GAZE	SURFACES
Essai 1	1788856
Essai 2	1795322
Essai 3	1791245
Essai 4	1781510
Essai 5	1795387
Essai 6	1793516

AVEC GAZE	
Moyenne	1790973
Ecart-type	5272
CV (%)	0,29

Tableau 1 : interaction gaze/Nadolol

La comparaison (-19-) des moyennes des surfaces obtenues avec et sans gaze permet de conclure à l'absence d'interaction entre la gaze et le Nadolol.

De plus, l'analyse d'un solvant (cf annexe 7) montre qu'il n'interfère pas avec le pic de Nadolol.

3.3. Répétabilité

3.3.1. Définition

La répétabilité exprime la fidélité sous des conditions identiques :

- même analyste
- même équipement
- court intervalle de temps
- mêmes réactifs

La répétabilité est réalisée sur dix pesées d'un même échantillon, chaque essai étant analysé une fois. Elle permet de déterminer une teneur moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation correspondant.

3.3.2. Résultats

La répétabilité est réalisée sur dix essais préparés à 0,1 mg/mL (cf préparation standards), chaque essai étant injecté une fois.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2 :

ESSAIS	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Essai 1	0,2046	1710042	8357977
Essai 2	0,1984	1697952	8558226
Essai 3	0,1971	1707008	8660619
Essai 4	0,2033	1758458	8649572
Essai 5	0,2028	1781332	8783688
Essai 6	0,2009	1748822	8704938
Essai 7	0,2143	1855452	8658199
Essai 8	0,2127	1860221	8745750
Essai 9	0,2117	1917807	9059079
Essai 10	0,2050	1729609	8437117

Moyenne	8661516
Ecart-type	193011
CV (%)	2,2

Tableau 2 : répétabilité

Intervalle de confiance (à 95%) : [8541889 ; 8781143]

Le coefficient de variation étant de 2,2%, la méthode de validation du Nadolol est répétable.

3.4. Seuil de détection

3.4.1. Définition

Le seuil de détection correspond à la plus petite quantité de la substance à examiner pouvant être détectée.

Pour calculer cette valeur il faudra réaliser un blanc à partir duquel est déterminée la fluctuation h_n la plus importante du bruit de fond par rapport à la ligne de base. Un même blanc sera par la suite chargé en substance jusqu'à obtenir un signal égal à environ trois fois le bruit de fond, ce signal étant considéré comme correspondant au seuil de détection (en $\mu\text{g/mL}$).

Connaissant la hauteur H du pic correspondant au composé concerné obtenue avec une solution de concentration donnée, il en sera alors aisément déduit la concentration au seuil de détection C_{SD} .

A partir des valeurs précédemment calculées, le rapport signal/bruit S/N est égal à :

$$S/N = 3 \cdot H / h_n$$

3.4.2. Résultats

Une solution à 0,1 mg/mL est préparée (cf préparation standards) avec une concentration exacte de 0,1023 mg/mL : la hauteur du pic obtenu est de 0,12 mV.

La hauteur du bruit de fond étant de $h_n = 3,05 \cdot 10^{-4}$ mV, la hauteur du pic correspondant au Nadolol est égale à $H = 3 \cdot h_n = 9,15 \cdot 10^{-4}$ mV et donc la concentration au seuil de détection est : 0,80 $\mu\text{g/mL}$.

Une solution à cette concentration, exactement à 0,803 $\mu\text{g/mL}$, est préparée afin de vérifier la détection du composé.

Les chromatogrammes obtenus avec cette solution (cf annexe 7) montrent bien que le Nadolol est détecté à environ $C_{SD} = 0,80 \mu\text{g/mL}$.

3.5. Seuil de quantification

3.5.1. Définition

Le seuil de quantification (en $\mu\text{g/mL}$) correspond à la plus petite quantité de la substance à examiner pouvant être dosée avec une fidélité et une exactitude définies. La concentration au seuil de quantification est déterminée par : $C_{SD} * 10/3$.

Pour définir la fidélité, il faut préparer au minimum six essais à cette concentration pour déterminer le coefficient de variation (qui doit être inférieur ou égal à 5%).

Pour définir l'exactitude, il faudra calculer le recouvrement moyen à partir des résultats obtenus avec une ou plusieurs solutions à la concentration correspondant à la limite.

3.5.2. Préparation des solutions

La concentration C_{SQ} au seuil de quantification est déterminée par :

$$C_{SQ} = (C_{SD}/3) * 10 = 2,67 \mu\text{g/mL}$$

Six solutions à cette concentration, par dissolution dans l'éluant de la pesée dans une fiole jaugée de 100 mL puis dilution au centième de cette solution, sont réalisées afin de vérifier le seuil de quantification.

3.5.3. Résultats

Les résultats sont présentés dans les tableaux 3 et 4 : le recouvrement correspond en pourcentage au rapport entre le résultat obtenu et la pesée, le résultat étant calculé par :

(surface essai / facteur de réponse moyen standards) * (1/100) * (5/100) * (100 * 100) avec :

- facteur $(1/100) \cdot (5/100)$: cf préparation des standards.
- facteur $(100 \cdot 100)$: cf préparation des essais.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2004	1780293	8883698
		1779031	8877400
Standard 2	0,2021	1803526	8923929
		1804389	8928199
Standard 3	0,2046	1835611	8971706
		1829166	8940205
Essai 1	0,0267	47883	1793371
Essai 2	0,0268	45862	1711269
Essai 3	0,0266	46952	1765113
Essai 4	0,0266	49565	1863346
Essai 5	0,0270	49182	1821556
Essai 6	0,0270	52432	1941926

Moyenne	8920856
Ecart-type	35476
CV (%)	0,4

Moyenne	1816097
Ecart-type	80250
CV (%)	4,4

Tableau 3 : seuil de quantification - fidélité

Le coefficient de variation étant inférieur à 5%, la fidélité pour le seuil de quantification est respectée.

Remarque : un exemple de chromatogramme d'un seuil de quantification et d'un standard sont joints en annexe 7.

ESSAIS	Pesées (g)	Résultats (g)	Recouvrement (%)
Essai 1	0,0267	0,0268	100,5
Essai 2	0,0268	0,0257	95,9
Essai 3	0,0266	0,0263	98,9
Essai 4	0,0266	0,0278	104,4
Essai 5	0,0270	0,0276	102,1
Essai 6	0,0270	0,0294	108,8

Moyenne	101,8
Ecart-type	4,5
CV (%)	4,4

Tableau 4 : seuil de quantification – recouvrement

Intervalle de confiance (à 95%) : [98,4%;105,6%]

Le recouvrement moyen est de 102% avec un coefficient de variation de 4,4% : l'exactitude est donc vérifiée.

3.6. Linéarité

3.6.1. Définition

La linéarité d'une méthode d'analyse correspond à sa capacité à obtenir des résultats proportionnels à la quantité de substance à examiner dans l'échantillon. Elle est déterminée sur cinq niveaux de concentration : généralement entre 70% et 130% de la valeur théorique à doser, qui correspond dans le cas présent à la limite d'acceptation fixée.

Chaque niveau de concentration fait l'objet d'une étude de répétabilité en étant réalisé à partir de trois pesées différentes.

Cette étude permet de tracer la courbe de régression et de calculer les paramètres correspondant (coefficient de corrélation, pente et ordonnée à l'origine).

3.6.2. Préparation des solutions

La linéarité est réalisée sur cinq niveaux de concentration: 70%, 85%, 100%, 115% et 130% de la limite d'acceptation (1 mg/gaze soit 0,1 mg/mL), chaque niveau étant fait sur trois pesées différentes.

Les différentes solutions sont préparées par dissolution de la pesée dans l'éluant dans une fiole jaugée de 100 mL puis dilution au dixième des solutions obtenues.

3.6.3. Résultats

Les résultats sont présentés dans le tableau 5 :

ESSAIS	Pesées (g)	Surfaces	Moyennes surfaces	Facteurs de réponse	Moyennes facteurs
70%	0,0700	1286678	1280389	18381114	18230396
	0,0702	1256846		17903789	
	0,0705	1297643		18406284	
85%	0,0849	1490887	1523700	17560506	17912022
	0,0853	1504542		17638242	
	0,0850	1575672		18537318	
100%	0,1059	1795141	1815872	16951284	17476522
	0,1034	1832732		17724681	
	0,1025	1819744		17753600	
115%	0,1153	2107178	2089051	18275611	18149671
	0,1151	2101803		18260669	
	0,1149	2058173		17912733	
130%	0,1301	2361435	2368268	18150922	18157203
	0,1314	2377093		18090510	
	0,1298	2366277		18230177	

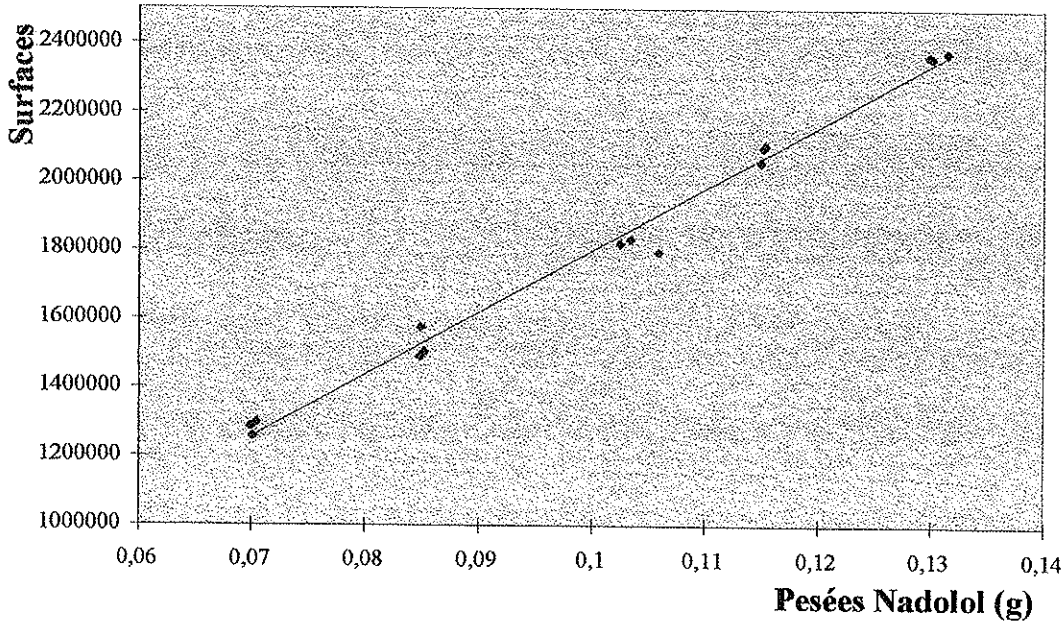
Moyenne	17985163
Ecart-type	414108
CV (%)	2,3

Tableau 5 : linéarité

Le coefficient de variation obtenu sur les quinze essais est de 2,3% : la méthode peut être ainsi considérée comme linéaire dans la gamme de concentrations comprise entre 70% et 130% de la limite d'acceptation.

Ces résultats permettent de tracer la courbe de régression et de calculer ses paramètres représentés sur le graphique suivant : la pente est significative et le coefficient de corrélation est voisin de 1.

Courbe de régression Nadolol



Coefficient de corrélation	0,9949
Pente	18108592
Ordonnée à l'origine	-12666,5

Graphique : droite de régression

3.7. Exactitude

3.7.1. Définition

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée et la valeur moyenne trouvée obtenue en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois. Elle est déterminée, dans le cas de l'analyse des prélèvements de surface en reproduisant le plus fidèlement possible les conditions de prélèvements sur

l'équipement, ceci à deux niveaux de concentrations : à la limite d'acceptation et au seuil de quantification.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de recouvrement par rapport aux quantités connues.

3.7.2. Préparation des solutions

L'exactitude est ici réalisée sur six essais correspondant à la limite d'acceptation et six correspondant au seuil de quantification.

Les solutions essais sont préparées dans l'éthanol et sont déposées, à raison de 0,5 mL, sur des surfaces en inox (10*10 cm) puis évaporées à température ambiante.

Ces surfaces sont échantillonnées : les gazes sont reprises par 10 mL d'éluant dans des flacons mis aux ultrasons 10 minutes puis sous agitation (300 tours/min) pendant 15 minutes. Les solutions sont filtrées avant l'analyse.

Trois solutions standards sont préparées à la concentration équivalente à la limite (0,1 mg/mL) et serviront pour tous les essais aux deux concentrations.

3.7.3. Etude du recouvrement à la limite d'acceptation

Les solutions (2 mg/mL) sont préparées par dissolution de la pesée dans l'éthanol dans une fiole jaugée de 50 mL.

Les résultats obtenus à la limite d'acceptation sont présentés dans le tableau 6 et les calculs de recouvrement dans le tableau 7.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2003	1735253	8663270
		1741206	8692991
Standard 2	0,2012	1709650	8497266
		1700991	8454230
Standard 3	0,2009	1754795	8734669
		1747769	8699696
Essai 1	0,1013	1613441	1597354
Essai 2	0,1015	1497253	14751261
Essai 3	0,1001	1589292	15877043
Essai 4	0,1004	1509868	15038526
Essai 5	0,1001	1477890	14764136
Essai 6	0,1016	1495668	14721142

Moyenne (standards)	8623687
Ecart-type	117611
CV (%)	1,4

Moyenne (essais)	15179910
Ecart-type	571268
CV (%)	3,8

Tableau 6 : exactitude limite – résultats standards et essais

Les résultats du tableau 7 sont calculés par :

(surface essai / facteur de réponse moyen standards)*(1/100)*(5/100)*50*(10/0,5) avec :

- facteur (1/100)*(5/100) : cf préparation standards.
- facteur 50 : cf préparation essais.
- facteur (10/0,5) : 0,5 mL des solutions essais sont déposés et sont repris par 10 mL

de solvant après essuyage.

ESSAIS	Pesées (g)	Surfaces	Résultats (g)	Recouvrement (%)
Essai 1	0,1013	1613441	0,0935	92,3
Essai 2	0,1015	1497253	0,0868	85,5
Essai 3	0,1001	1589292	0,0921	92,1
Essai 4	0,1004	1509868	0,0875	87,2
Essai 5	0,1001	1477890	0,0857	85,6
Essai 6	0,1016	1495668	0,0867	85,4

Moyenne (%)	88,0
Ecart-type	3,3
CV (%)	3,8

Tableau 7 : recouvrement limite

Intervalle de confiance (à 95%) : [85,4% ; 90,6%]

Le recouvrement moyen est de **88%** avec un coefficient de variation de 3,8% :
l'exactitude de la méthode n'est pas totale à cette concentration.

3.7.4. Etude du recouvrement au seuil de quantification

Les solutions (53,3 µg/mL) sont préparées par dissolution de la pesée dans l'éthanol dans une fiole jaugée de 100 mL puis dilution au cinquième (dans une fiole jaugée de 50 mL) de ces solutions.

Les résultats obtenus au seuil de quantification sont présentés dans le tableau 8 et les calculs de recouvrement dans le tableau 9.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2003	1746473	8719286
		1742112	8697514
Standard 2	0,2012	1728751	8592202
		1736089	8628673
Standard 3	0,2009	1751115	8716351
		1744613	8683987
Essai 1	0,2684	43106	160604
Essai 2	0,2663	43091	161814
Essai 3	0,2667	39183	146918
Essai 4	0,2676	43940	164200
Essai 5	0,2672	39608	148234
Essai 6	0,2675	40009	149566

Moyenne (standards)	8673002
Ecart-type	51452
CV (%)	0,6

Moyenne (essais)	155223
Ecart-type	7782
CV (%)	5,0

Tableau 8 : exactitude seuil de quantification - résultats

Les résultats (tableau 9) sont obtenus par le calcul suivant :

$(\text{surface essai} / \text{facteur de réponse moyen standards}) * (1/100) * (5/100) * (100 * 50) * (10/0,5)$

avec :

- $(1/100) * (5/100)$: cf préparation standards
- facteur $(100 * 50)$: cf préparation essais
- facteur $(10/0,5)$: cf dépôt et reprise des gazes.

ESSAIS	Pesées (g)	Surfaces	Résultats (g)	Recouvrement (%)
Essai 1	0,2684	43106	0,2485	92,6
Essai 2	0,2663	43091	0,2484	93,3
Essai 3	0,2667	39183	0,2259	84,7
Essai 4	0,2676	43940	0,2533	94,7
Essai 5	0,2672	39608	0,2283	85,5
Essai 6	0,2675	40009	0,2307	86,2

Moyenne (%)	89,5
Ecart-type	4,5
CV (%)	5,0

Intervalle de confiance : [85,9% ; 93,1%]

Tableau 9 : recouvrement – seuil de quantification

Le recouvrement moyen est de **89,5%** avec un coefficient de variation de 5,0% : l'exactitude de la méthode est proche de 90%, c'est-à-dire que 90% environ de la quantité déposée est récupérée lors du prélèvement.

Remarque : les recouvrements obtenus aux deux concentrations étudiées sont équivalents, avec un coefficient de variation plus élevé pour la concentration correspondant au seuil de quantification.

3.8. Conclusion

Les critères étudiés pour la validation de la méthode de détection de traces de Nadolol,

⇒ spécificité,

⇒ répétabilité,

⇒ seuils de détection et de quantification,

⇒ linéarité et

⇒ exactitude,

étant respectés, la recherche de Nadolol prélevé par essuyage et dosé par CLHP est applicable pour une limite d'acceptation calculée de l'ordre de **1 mg/gaze**.

Il conviendra néanmoins de tenir compte du rendement de récupération de l'ordre de 90% pour les calculs ultérieurs.

VI. VALIDATION DU NETTOYAGE

Les quantités résiduelles de Nadolol présentes sur les prélèvements sont déterminées par comparaison des surfaces des échantillons avec celles obtenues avec des standards de Nadolol, en considérant leurs préparations respectives.

De plus, le calcul des quantités m de Nadolol prélevé sur les gazes prend en compte le recouvrement, de l'ordre de 90%, déterminé lors de la validation de la méthode de dosage.

Ce calcul (en mg/gaze) est obtenu par la formule suivante :

$$m = (S/F) * (1/100) * (5/100) * 10 * 1000 * (100/90)$$

avec : • S : surface du pic pour l'échantillon

• F : moyenne des facteurs de réponse des standards, le facteur de réponse F' pour un standard étant égal au rapport de la surface S' du pic du standard par sa pesée m' :
 $F' = S'/m'$.

• facteur $(1/100) * (5/100)$: les standards sont préparés par dilution de la pesée m' dans une fiole jaugée de 100 mL puis prélèvement de 5 mL de cette solution introduits dans une fiole jaugée de 100 mL complétée au volume.

• facteur 10 : les gazes sont reprises par 10 mL de solvant.

• facteur 1000 : conversion en mg, la pesée du standard m' étant en g.

Les valeurs obtenues (en mg/gaze) seront notées dans les tableaux de résultats :

♦ < au seuil de détection : si l'appareil ne détecte pas de pic ou un pic avec une surface correspondant à une valeur inférieure au seuil de détection ;

♦ < seuil de quantification : si la surface donnée correspond à une valeur comprise entre le seuil de détection et de quantification ;

♦ x mg/gaze : pour toute surface correspondant à une valeur supérieure au seuil de quantification.

Remarque : les résultats des analyses sont reportés sur des feuilles de résultats (cf annexe 8) adaptées et précisant le produit précédant le prélèvement ainsi que les dates auxquelles ont été effectués nettoyage, prélèvement et analyse. Les calculs sont vérifiés par une autre personne.

1. Préparation des solutions

Après prélèvement (avec des gants stériles), les gazes sont déposées dans des flacons à usage unique où elles sont reprises par 10 mL d'éluant puis traitées comme pour l'étude de l'exactitude de la méthode de dosage (cf V.3.7.2.).

2. Containers

2.1. Matériel prélevé

◆ Containers 1000 L :

- ◆ série 1 : cuve n° 0111
- ◆ série 2 : cuve n° 0107
- ◆ série 3 : cuve n° 0112

◆ Containers 600 L :

- ◆ série 1 : cuve n° 0003
- ◆ série 2 : cuve n° 0002
- ◆ série 3 : cuve n° 0010

2.2. Résultats

2.2.1. Préparation des solutions

Les standards utilisés pour cette étude sont ceux préparés pour l'exactitude. Ils sont injectés en début, au milieu et en fin d'analyse.

2.2.2. Analyse des prélèvements

◆ Containers 1000 L séries 1 et 2 : les résultats obtenus après prélèvement sur les cuves de 1000 L sont présentés dans le tableau 10.

	Injections	Surfaces	Pesées (g)	Facteurs de réponse
Standard 1	Début	1744921	0,2003	8711538
		1747575		8724788
	Milieu	1739103		8682491
	Fin	1743517		8704528
Standard 2	Début	1739191	0,2012	8644090
		1725206		8574583
	Milieu	1734477		8620661
	Fin	1728920		8593042
Standard 3	Début	1760922	0,2009	8765167
		1759775		8759457
	Milieu	1758517		8753196
	Fin	1766225		8791563

Moyenne	8693759
Ecart-type	71473
CV (%)	0,82

	Prélèvement	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Cuve 0111	Haut	-	< seuil de détection
	Vanne	-	< seuil de détection
	Bas	-	< seuil de détection
Cuve 0107	Haut	-	< seuil de détection
	Vanne	-	< seuil de détection
	Bas	-	< seuil de détection

Tableau 10 : résultats cuves 1000 L séries 1 et 2

Les résultats de l'analyse des prélèvements sur les containers de 1000 L séries 1 et 2 permettent de conclure à l'absence de Nadolol, du moins à une concentration inférieure à celle correspondant au seuil de détection.

◆ Container 1000 L série 3 : les résultats sont présentés dans le tableau

11.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2010	1701729	8466313
		1698605	8450771
		1775778	8834716
		1759648	8754468
Standard 2	0,2002	1684571	8414441
		1745888	8720719
		1739924	8690929
		1735912	8670889
Standard 3	0,2001	1714390	8567666
		1780380	8897451
		1767798	8834573
		1771534	8853243
		Moyenne	8679682
		Ecart-type	168922
		CV (%)	1,95

	Prélèvement	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Cuve 0112	Haut	-	< seuil de détection
	Bas	10004	< seuil de quantification
	Vanne du bas	-	< seuil de détection

Tableau 11 : résultats cuve 1000 L série 3

L'analyse des prélèvements de la cuve 0112 indique l'absence de Nadolol ou en quantité négligeable par rapport au seuil de détection défini.

La méthode de nettoyage peut donc être validée pour ce type de cuves.

◆ Containers 600 L série 1 :

Les standards sont identiques à ceux utilisés pour les cuves de 1000 L séries 1 et 2. Les résultats obtenus après prélèvement sur les cuves de 600 L sont présentés dans le tableau 12.

	Prélèvement	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Cuve 0003	Haut	-	< seuil de détection
	Vanne	5065	< seuil de quantification
	Bas	2957	< seuil de quantification

Tableau 12 : résultats cuve 600 L série 1

Les résultats de l'analyse des prélèvements de la cuve n° 0003 indiquent la présence de Nadolol sur la vanne et sur la paroi du bas, mais en quantité négligeable par rapport à la limite fixée (1mg/gaze).

◆ Container 600 L séries 2 et 3 :

Les standards utilisés sont les mêmes que pour les cuves 1000 L série 3.

Les résultats sont présentés dans le tableau 13.

	Prélèvement	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Cuve 0002	Haut	-	< seuil de détection
	Bas	5899	< seuil de quantification
	Vanne du bas	-	< seuil de détection
Cuve 0010	Haut	-	< seuil de détection
	Bas	-	< seuil de détection
	Vanne du bas	-	< seuil de détection

Tableau 13 : résultats cuves 600 L séries 2 et 3

D'après les résultats obtenus, les deux cuves précédentes sont exemptes de Nadolol, ce qui permet de valider le nettoyage des cuves de 600 L.

L'analyse des prélèvements effectués sur les containers concernant le Nadolol (600 et 1000 L) permet de conclure à l'absence du principe actif et donc à la validation de la méthode de nettoyage (cabine de lavage).

3. Centrale de pesée

3.1. Analyse des prélèvements série 1

Les résultats sont présentés dans le tableau 14 : le Nadolol est présent en faible quantité au niveau de la centrale de pesée.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2006	1763000	8788634
		1756774	8757597
		1774344	8845184
Standard 2	0,2030	1783833	8787355
		1777258	8754966
		1791792	8826562
Standard 3	0,2008	1781103	8870035
		1779136	8860239
		1785946	8894153
		Moyenne	8820525
		Ecart-type	50583
		CV (%)	0,57

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Tamiseur	Corps	11259	< seuil de détection
	Grille	29796	< seuil de quantification
Centrale de pesée (système de transfert et local)	Cheminée d'alimentation	-	< seuil de détection
	Goulotte	-	< seuil de détection
	Mur	69875	0,04401
	Sol	120463	0,07587

Tableau 14 : résultats centrale de pesée série 1

3.2. Analyse des prélèvements série 2

Les résultats sont présentés dans le tableau 15 : les quantités prélevées sont inférieures à la limite d'acceptation.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,0503	1808392	35952127
		1778024	35348390
		1794101	35668012
Standard 2	0,0503	1859797	36974095
		1810062	35985328
		1815095	36085388
Standard 3	0,0495	1791612	36194182
		1774526	35849010
		1785138	36063394

Moyenne	36013325
Ecart-type	441078
CV (%)	1,22

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Tamiseur	Grille	-	< seuil de détection
	Corps	6441	< seuil de détection
Centrale de pesée	Goulotte	30549	< seuil de quantification
	Cheminée d'alimentation	-	< seuil de détection
	Mur	96681	0,05966
	Sol	98681	0,06089

Tableau 15 : résultats centrale de pesée série 2

3.3. Conclusion

Les résultats obtenus permettent de penser que le nettoyage de la centrale de pesée est validé mais il faudrait confirmer cette conclusion avec une troisième série.

4. Granulation par voie humide

Remarque : dans le cas de la granulation par voie humide, le Nadolol est pesé en centrale de pesée mais ne passe pas par le système de tamisage car il est introduit dans la solution de mouillage.

4.1. Granulation

4.1.1. Analyse des prélèvements série 1

Les résultats sont présentés dans le tableau 16 : les valeurs obtenues pour les prélèvements réalisés en granulation sont inférieures à la norme définie.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2030	1768354	8711103
		1762414	8681842
		1781631	8776507
Standard 2	0,2004	1713332	8549561
		1716300	8564371
		1719650	8581088
Standard 3	0,2001	1564061	7816397
		1576784	7879980
		1577683	7884473

Moyenne	8382814
Ecart-type	399105
CV (%)	4,76

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Fielder	Cuve	288690	0,19132
	Vanne	-	< seuil de détection
Frewitt	Grille	-	< seuil de détection
	Bâti	-	< seuil de détection
Local granulation	Mur	-	< seuil de détection
	Sol	9773	< seuil de détection

Tableau 16 : résultats granulation série 1

4.1.2. Analyse des prélèvements série 2

Les résultats sont présentés dans le tableau 17 : les quantités de Nadolol prélevées sur l'équipement de granulation sont très inférieures à la limite d'acceptation.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2010	1786298	8887055
		1776739	8839498
		1770980	8810846
		1780958	8860488
Standard 2	0,2002	1789367	8937897
		1752349	8752992
		1756424	8773347
		1755577	8769116
Standard 3	0,2001	1827748	9134173
		1800714	8999070
		1799593	8993468
		1784669	8918886

Moyenne	8889736
Ecart-type	113633
CV (%)	1,28

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Fielder	Cuve	-	< seuil de détection
	Vanne	-	< seuil de détection
Local granulation	Mur	-	< seuil de détection
	Sol	96904	0,06056

Tableau 17 : résultats granulation série 2

4.1.3. Analyse des prélèvements série 3

Les résultats sont présentés dans le tableau 18 : les valeurs obtenues sont inférieures au seuil de détection déterminé et donc négligeables.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2010	1701729	8466313
		1698605	8450771
		1775778	8834716
		1759648	8754468
Standard 2	0,2002	1684571	8414441
		1745888	8720719
		1739924	8690929
		1735912	8670889
Standard 3	0,2001	1714390	8567666
		1780380	8897451
		1767798	8834573
		1771534	8853243

Moyenne	8679682
Ecart-type	168922
CV (%)	1,95

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Fielder	Cuve	-	< seuil de détection
	Vanne	-	< seuil de détection
Frewitt	Grille	-	< seuil de détection
	Bâti	6929	< seuil de détection
Local granulation	Mur	10606	< seuil de détection
	Sol	-	< seuil de détection

Tableau 18 : résultats granulation série 3

4.2. Séchage

Les standards utilisés sont les mêmes que pour l'étude en granulation (de la même série). Les deux séries correspondant à ces standards (en granulation et séchage) sont analysées en même temps (cf résultats standards pour la granulation).

4.2.1. Analyse des prélèvements série 1

Les résultats sont présentés dans le tableau 19 : les quantités de Nadolol prélevées dans le local de séchage sont inférieures à la norme.

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Aéromatic	Cuve	-	< seuil de détection
	Intérieur	-	< seuil de détection
	Bol	5971	< seuil de détection
Local séchage	Mur	40523	0,02686
	Sol	20023	< seuil de quantification

Tableau 19 : résultats séchage série 1

4.2.2. Analyse des prélèvements série 2

Les résultats sont présentés dans le tableau 20 : le Nadolol est absent ou présent à des quantités très inférieures à la norme.

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Aéromatic	Cuve	-	< seuil de détection
	Intérieur	-	< seuil de détection
	Bol	-	< seuil de détection
Frewitt	Grille	23932	< seuil de quantification
	Bâti	-	< seuil de détection
Local séchage	Mur	31804	< seuil de quantification
	Sol	39483	< seuil de quantification

Tableau 20 : résultats séchage série 2

4.2.3. Analyse des prélèvements série 3

Les résultats sont présentés dans le tableau 21 : le Nadolol est présent en quantité faible par rapport à la limite déterminée.

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Aéromatic	Cuve	-	< seuil de détection
	Intérieur	6402	< seuil de détection
	Bol	-	< seuil de détection
Local séchage	Mur	36087	< seuil de quantification
	Sol	28525	< seuil de quantification

Tableau 21 : résultats séchage série 3

4.3. Conclusion

Les résultats des analyses des prélèvements concernant la granulation par voie humide permettent de conclure à la validation du nettoyage pour ce type de matériel.

5. Granulation par voie sèche : compacteur

5.1. Analyse des prélèvements série 1

L'analyse des prélèvements a été réalisée à la suite de celle pour la presse série 3 (cf résultats standards 6.3.).

Les résultats sont présentés dans le tableau 22 :

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Compacteur salle 451	Trémie	57107	0,03569
	Vis d'alimentation	-	< seuil de détection
	Rouleaux	883901	0,55239
	Grille granulateur	38073	< seuil de quantification
	Cône	-	< seuil de détection
	Bâti	32474	< seuil de quantification
	Cheminée d'alimentation	30882	< seuil de quantification
	Vannes	145748	0,09108
	Corps	-	< seuil de détection
	Clapet	83981	0,05248
	Couvercle	45752	0,02859
Local compactage	Mur	9668	< seuil de détection
	Sol	79428	0,04964

Tableau 22 : résultats compacteur série 1

Les quantités prélevées sur le compacteur sont conformes, avec une valeur plus élevée pour les rouleaux (le prélèvement ayant été fait sur le rouleau à surface striée).

5.2. Analyse des prélèvements série 2

Pour cette série, les standards ont exceptionnellement été préparés de façon différente (pour une raison de matériel) en dissolvant la pesée dans une fiole de 25 mL puis en diluant 1 mL de cette solution dans une fiole jaugée de 20 mL : dans le calcul de m, le deuxième facteur devient donc : $(1/25)*(1/20)$.

Les résultats sont présentés dans le tableau 23 :

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,0503	1787056	35527952
		1783154	35450378
		1806461	35913738
Standard 2	0,0503	1809838	35980875
		1821946	36221590
		1818052	36144175
Standard 3	0,0495	1783187	36023980
		1766667	35690242
		1771966	35797293

Moyenne	35861136
Ecart-type	266147
CV (%)	0,74

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Compacteur salle 451	Trémie	102930	0,06378
	Vis d'alimentation	37048	< seuil de quantification
	Rouleaux	479892	0,29738
	Grille granulateur	30183	< seuil de quantification
	Cône	26025	< seuil de quantification
	Bâti	726530	0,45021
	Cheminée d'alimentation	321281	0,19909
	Vannes	38464	< seuil de quantification
	Corps	81188	0,05031
	Clapet	268207	0,16620
	Couvercle	47562	0,02947
Local compactage	Mur	412793	0,25580
	Sol	2943429	1,82397

Tableau 23 : résultats compacteur série 2

Le Nadolol est présent sur tous les prélèvements, avec une valeur plus élevée sur les rouleaux et le bâti du compacteur et une quantité supérieure à la norme (1mg/gaze) pour le sol du local. Ce résultat hors norme implique qu'une quatrième série devra être réalisée sur le compacteur.

6. Compression

6.1. Analyse des prélèvements série 1 (presse P2100)

Les résultats sont présentés dans le tableau 24 : les quantités prélevées de Nadolol sont relativement faibles, avec une valeur plus élevée au sol.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2030	1777889	8758074
		1779369	8765365
		1787803	8806911
Standard 2	0,2004	1767865	8821682
		1768554	8825120
		1773711	8850853
Standard 3	0,2001	1774066	8865897
		1789885	8944953
		1772716	8859150

Moyenne	8833112
Ecart-type	56654
CV (%)	0,64

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Presse P2100 et ses périphériques	Trémie	-	< seuil de détection
	Goulotte d'évacuation	28868	< seuil de quantification
	Fillomatic	31765	< seuil de quantification
	Capots de protection	12712	< seuil de détection
	Capots d'aspiration	-	< seuil de détection
	Racleurs	37397	< seuil de quantification
	Plateau	89881	0,05653
	Bâti	156447	0,09840
	Gratex	12014	< seuil de détection
	Métalchek	29766	< seuil de quantification
	Tapis élévateur	31417	< seuil de quantification
	Cheminée d'alimentation	39834	< seuil de quantification
Vannes	6616	< seuil de détection	

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Local de compression	Mur	7309	< seuil de détection
	Sol	384354	0,24174

Tableau 24 : résultats presse série 1

6.2. Analyse des prélèvements série 2 (presse P2100)

Les résultats sont présentés dans le tableau 25 :

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2006	1736831	8658180
		1751149	8729556
		1738857	8668280
Standard 2	0,2030	1760501	8672419
		1754573	8643217
		1762254	8681054
Standard 3	0,2008	1720263	8567047
		1726336	8597291
		1727487	8603023
		Moyenne	8646674
		Ecart-type	50013
		CV (%)	0,58

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Presse P2100 et ses périphériques	Trémie	-	< seuil de détection
	Goulotte d'évacuation	29631	< seuil de quantification
	Fillomatic	21103	< seuil de quantification
	Capots de protection	11254	< seuil de détection
	Capots d'aspiration	-	< seuil de détection
	Racleurs	-	< seuil de détection
	Plateau	63460	0,04077
	Bâti	56423	0,03625
	Gratex	-	< seuil de détection
	Métalchek	-	< seuil de détection
	Tapis élévateur	24641	< seuil de quantification
	Cheminée d'alimentation	-	< seuil de détection
	Vannes	18340	< seuil de quantification
Local de compression	Mur	19556	< seuil de quantification
	Sol	266727	0,17137

Tableau 25 : résultats presse série 2

Les quantités de Nadolol présentes sur les gazes prélevées sur la presse sont toutes inférieures à la norme définie, avec une valeur plus élevée (par rapport aux autres prélèvements) pour le prélèvement au sol.

6.3. Analyse des prélèvements série 3 (presse P2000)

Les résultats sont présentés dans le tableau 26 :

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2010	1786298	8887055
		1776739	8839498
		1770980	8810846
		1780958	8860488
Standard 2	0,2002	1789367	8937897
		1752349	8752992
		1756424	8773347
		1755577	8769116
Standard 3	0,2001	1827748	9134173
		1800714	8999070
		1799593	8993468
		1784669	8918886

Moyenne	8889736
Ecart-type	113633
CV (%)	1,28

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Presse P2000 et ses périphériques	Trémie	-	< seuil de détection
	Goulotte d'évacuation	64924	0,04057
	Fillomatic	15378	< seuil de quantification
	Capots d'aspiration	6940	< seuil de détection
	Racleurs	10372	< seuil de détection
	Plateau	158559	0,09909
	Bâti	1651782	1,03227
	Gratex	-	< seuil de détection
	Métalchek	260240	0,16263
	Tapis élévateur	199774	0,12485
	Cheminée d'alimentation	20520	< seuil de quantification
Local de compression	Vannes	-	< seuil de détection
	Mur	40905	< seuil de quantification
	Sol	107376	0,06710

Tableau 26 : résultats presse série 3

Les quantités prélevées de Nadolol sur la presse sont inférieures à la limite d'acceptation sauf pour le bâti (certainement lié à la striation de la surface). Néanmoins, un nettoyage supplémentaire (à l'alcool) permet d'obtenir par une nouvelle analyse une quantité équivalente à 0,108 mg/gaze. Cependant, il conviendra de réaliser une quatrième série.

6.4. Analyse des prélèvements série 4 (presse P2100)

Les résultats sont présentés dans le tableau 27 : les quantités de Nadolol présentes sur la presse sont inférieures à la norme avec une valeur plus élevée pour le plateau, le prélèvement ayant été fait au niveau de la couronne.

	Pesées (g)	Surfaces	Facteurs de réponse
Standard 1	0,2010	1701729	8466313
		1698605	8450771
		1775778	8834716
		1759648	8754468
Standard 2	0,2002	1684571	8414441
		1745888	8720719
		1739924	8690929
		1735912	8670889
Standard 3	0,2001	1714390	8567666
		1780380	8897451
		1767798	8834573
		1771534	8853243
		Moyenne	8679682
		Ecart-type	168922
		CV (%)	1,95

Equipements	Prélèvements	Surfaces	Résultats (mg/gaze)
Presse P2100 et ses périphériques	Trémie	-	< seuil de détection
	Goulotte d'évacuation	-	< seuil de détection
	Fillomatic	21083	< seuil de quantification
	Capots de protection	13086	< seuil de quantification
	Capots d'aspiration	-	< seuil de détection
	Racleurs	11867	< seuil de détection
	Plateau	135093	0,08647
	Bâti	-	< seuil de détection
	Gratex	-	< seuil de détection
	Métalchek	46361	0,02967
	Tapis élévateur	31948	< seuil de quantification
	Cheminée d'alimentation	-	< seuil de détection
	Vannes	-	< seuil de détection
Local de compression	Mur	-	< seuil de détection
	Sol	37371	< seuil de quantification

Tableau 27 : résultats presse série 4

7. Conclusion

Les résultats obtenus pour le Nadolol permettent de conclure à la validation de la méthode de nettoyage pour les équipements suivants :

- ⇒ containers 600 et 1000 L,
- ⇒ presse,
- ⇒ granulateur et sécheur pour la granulation par voie humide.

Reste à confirmer les résultats pour :

- ⇒ la centrale de pesée avec une série,
- ⇒ le compacteur avec deux séries.

L'analyse des résultats a permis de révéler certains points critiques pour le nettoyage des équipements qui seront pris en compte par les opérateurs par la suite en y apportant une attention plus particulière.

VII. CONCLUSION

L'étude menée pendant quelques mois sur la validation de nettoyage pour le Nadolol montre la complexité et la longueur d'une telle démarche.

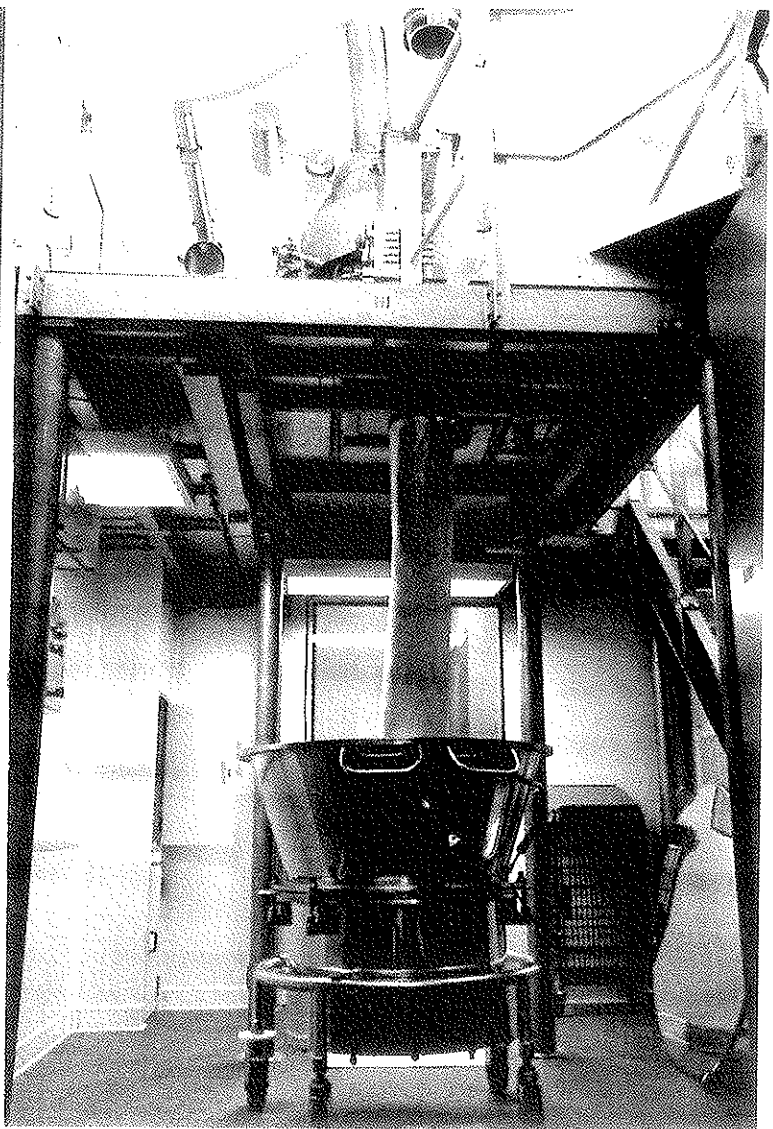
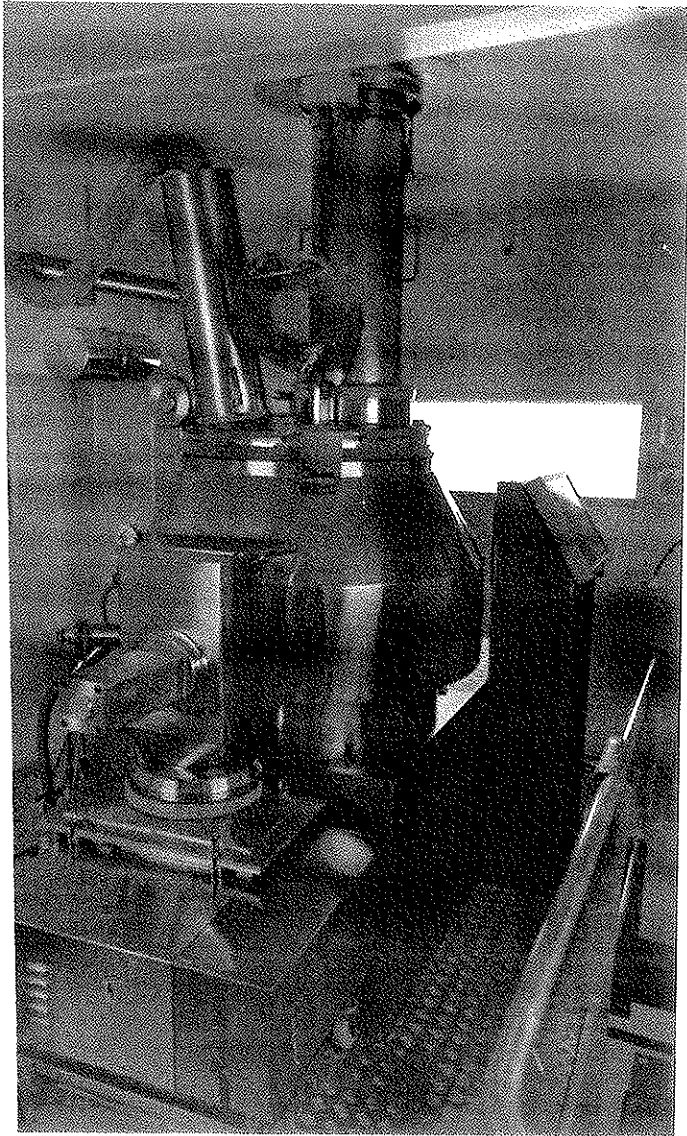
En effet, pour un tel produit fabriqué de façon discontinue et la validation nécessitant plusieurs séries, il faudra adapter les prélèvements selon le planning de fabrication et de nettoyage.

La réussite d'un tel travail n'est alors permise que grâce à une bonne communication entre la production (et les personnes chargées du nettoyage), le préleveur et le laboratoire de contrôle afin que les prélèvements puissent être analysés rapidement.

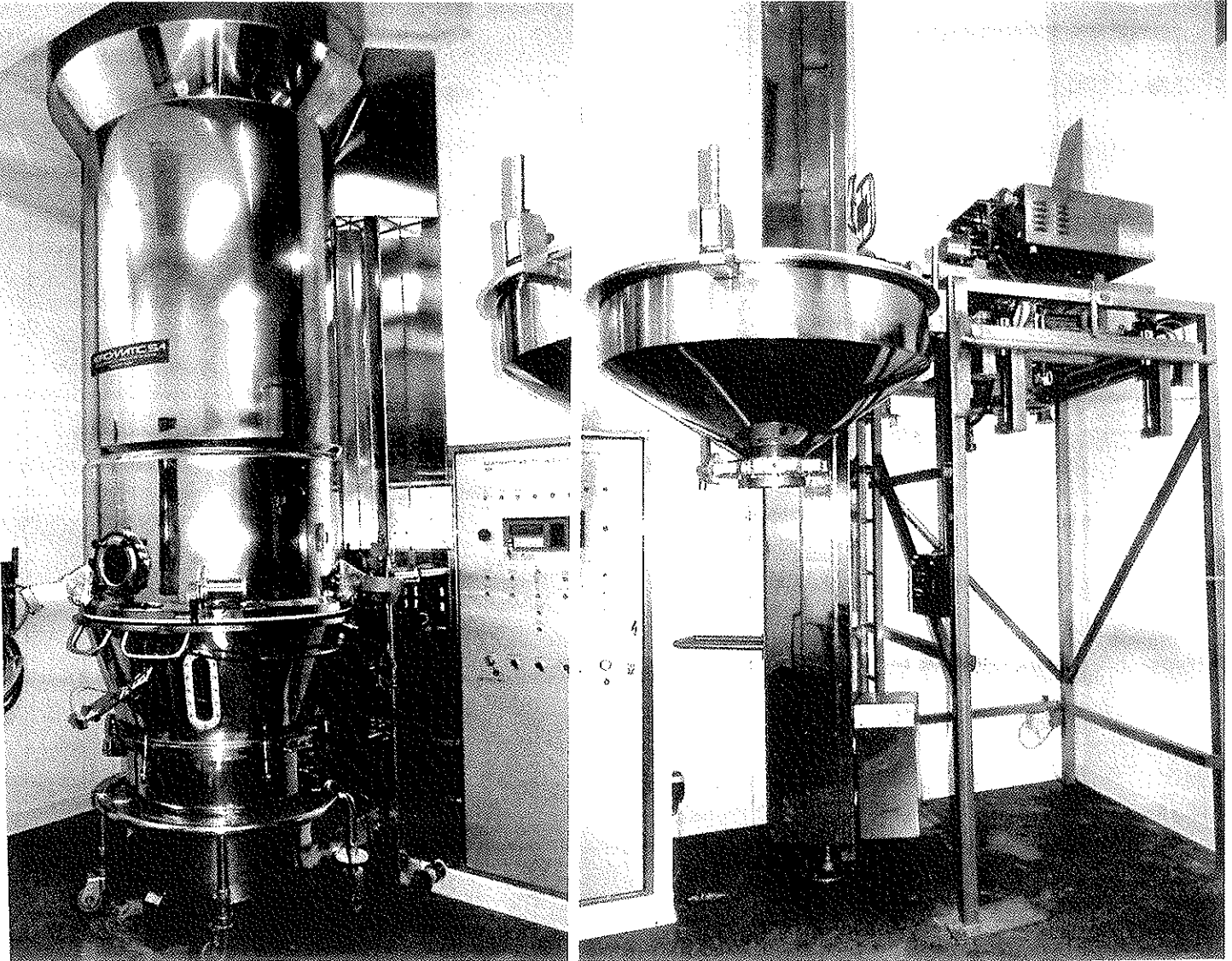
Cette étude m'a ainsi fait découvrir les différentes étapes de fabrication et d'analyse d'un produit mais aussi et surtout elle m'a fait comprendre la nécessité et l'obligation de mener sérieusement une validation de nettoyage dans le but de conserver la qualité.

ANNEXES

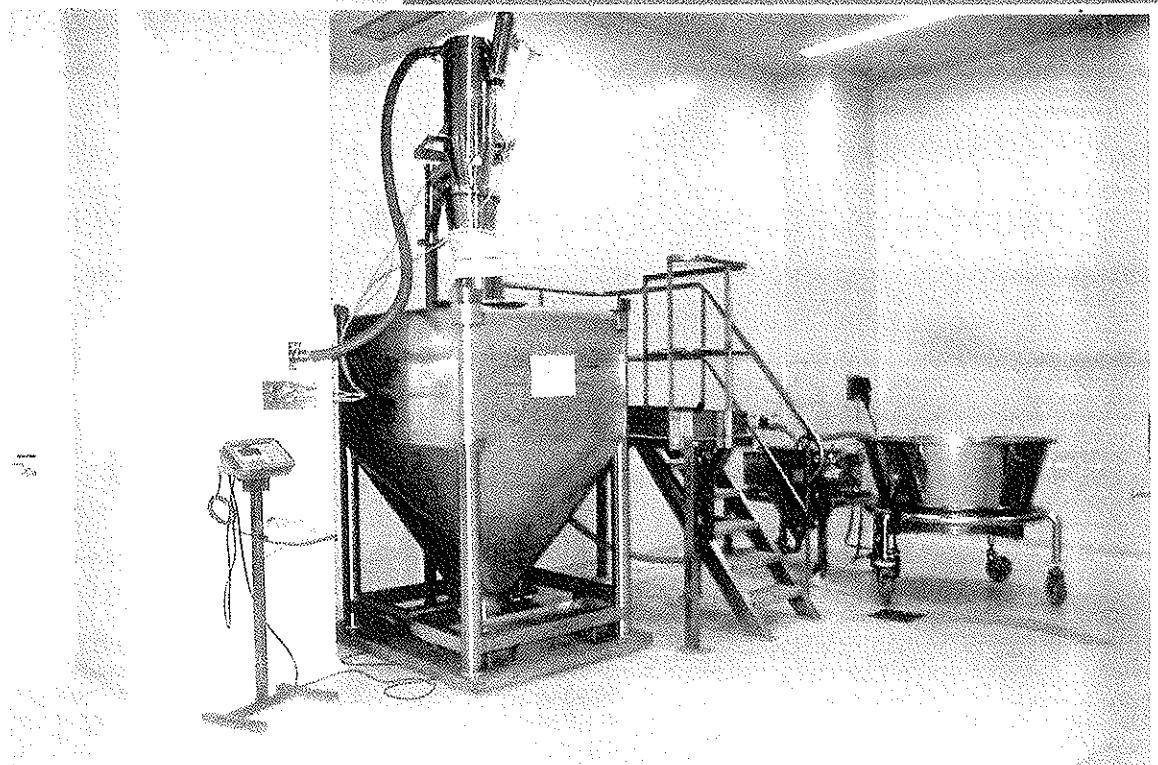
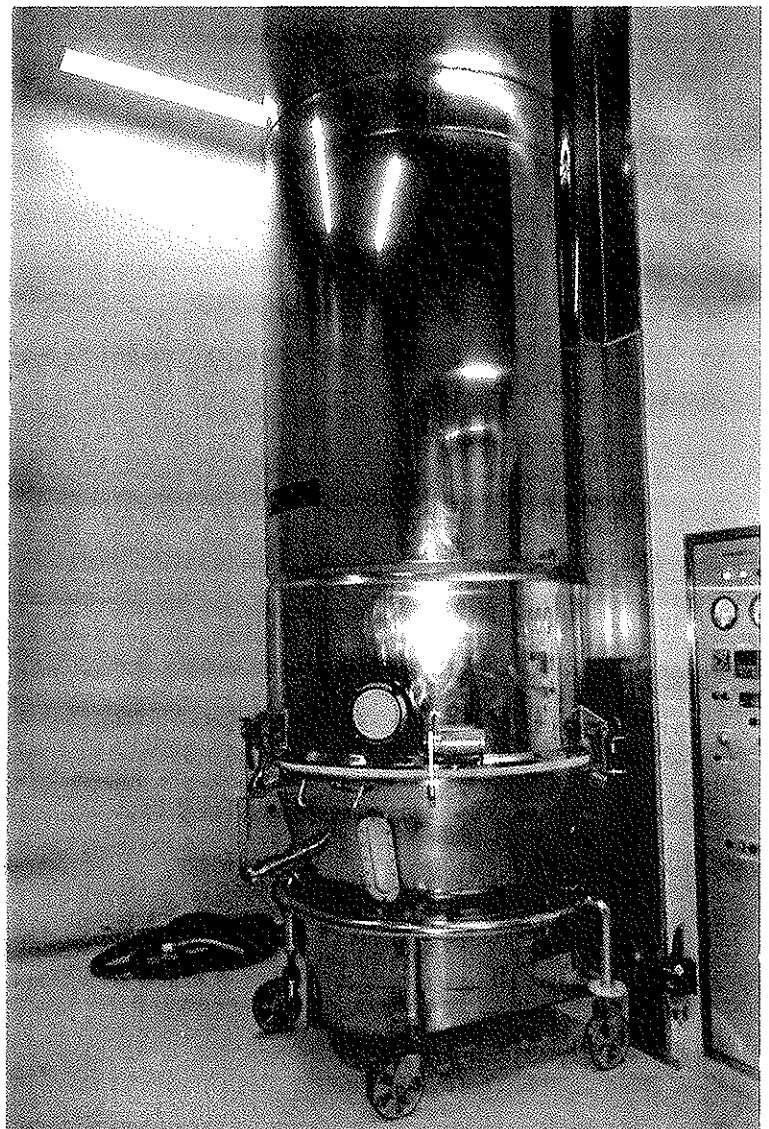
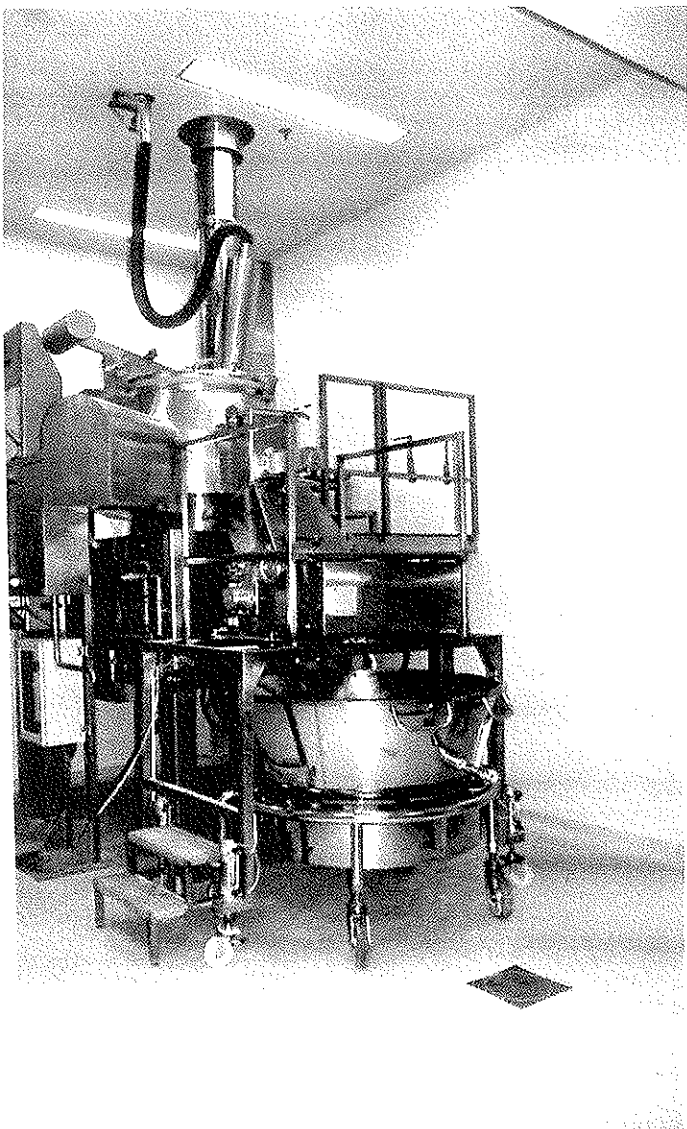
ANNEXE 1 : granulateur Fielder



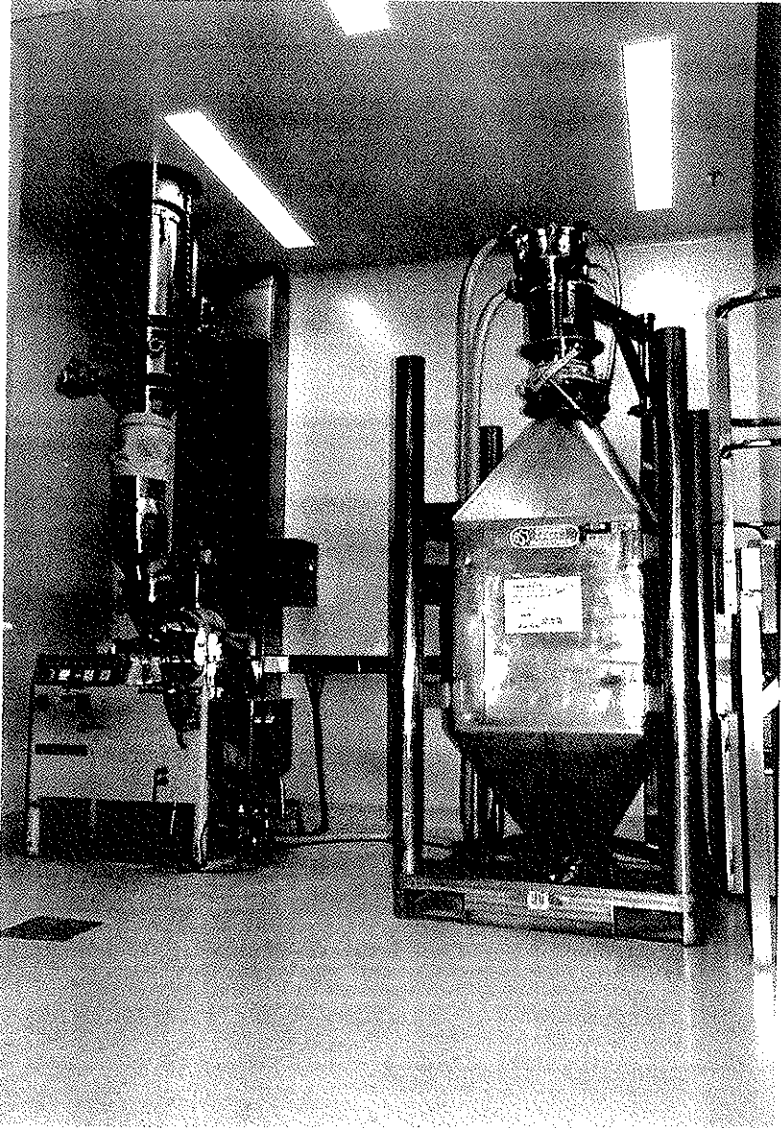
ANNEXE 2 : sécheur Aéromatic



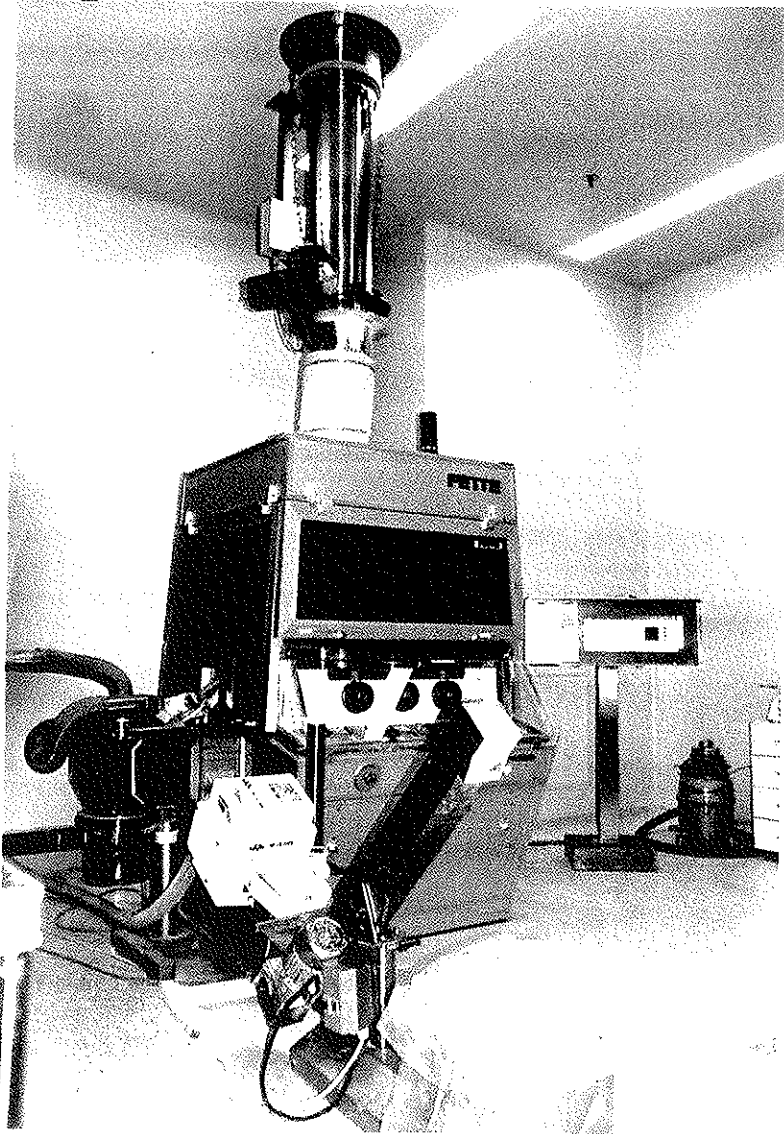
ANNEXE 3 : granulater, sécheur et système de transfert dans le container après séchage (en bas)



ANNEXE 4 : compacteur Alexanderwerk (et système de transfert dans le container)



ANNEXE 5 : presse Fette P2100



ANNEXE 6 : validation guideline
« PSV-VG-F21 » du 30 Juillet 1994



Validation Guideline
BPC Cleaning Validation

5.5.5. Swab Sampling

- 5.5.5.1 Swab samples are to be collected in areas considered to be the most difficult to clean based on sound scientific judgement. Several examples of possible difficult to clean areas include: (1) Tank lids; (2) sample, inspection and instrument ports, and other indented areas; (3) transfer piping networks.
- 5.5.5.2 It is not necessary to collect swab samples of all miscellaneous items (scopes, utensils, containers, etc.) if cleaned based on a similar procedure. A representative sample of swabs is adequate.
- 5.5.5.3 An analytical method is to be developed, and validated. The analytical method validation is to include an analysis of the amount of recovery based on the surface material being swabbed and verification of sensitivity/linearity at the cleaning validation limit.
- 5.5.5.4 Test the swab sample(s) for the presence of the *drug substance* or *key/final intermediate* and degradants from exposure to the cleaning agent. The limits are to be developed based on: (1) the lowest therapeutic dose; (2) estimated equipment surface area; (3) lower working capacity limit and/or smallest batch size; and (4) percent recovery of the assay method. A suggested formula for calculating the swab sample limits is the following:

$$\alpha_S = \frac{(S_L) (S_F) (\text{Batch}_{\text{MIN}}) (\text{Swab}_S)}{(E_S) (\text{Dose}_{\text{MAX}})} \times \frac{[100]}{\text{Units Conversion Factor}}$$

α_S = Swab limit, mg

S_L = Safety limit, mg/subject/day. Recommended values are presented in Table I.

Alternatively, the value may be estimated based on 0.01% of the Dose_{MAX} . In this case, the formula is reduced to:

$$\alpha_S = (0.001) (S_F) (\text{Batch}_{\text{MIN}}) (\text{Swab}_S) (100) / (E_S)$$



BMS Product and Systems Validation

Validation Guideline BPC Cleaning Validation

S_F	=	Safety factor, a value of between 1/10 and 1/100 is suggested. A higher safety factor should be provided for equipment towards the end of a equipment train if there is no final mixing or blending of the product.
$Batch_{MIN}$	=	Minimum batch size, Kg, based on all <i>BPCs</i> produced on the equipment/system.
$Swab_S$	=	Swab sample area, cm^2 . A minimum swab surface area of $10\ cm^2$ is recommended, where obtainable.
E_S	=	Equipment Surface Area, m^2 .
$Dose_{MAX}$	=	Maximum dosage per day, mg, based on all <i>BPCs</i> produced on the equipment/system.

ANNEXE 7 : chromatogrammes (avec feuilles de résultats) :

- d'un solvant
- d'un seuil de détection
- d'un seuil de quantification
- d'un standard de Nadolol

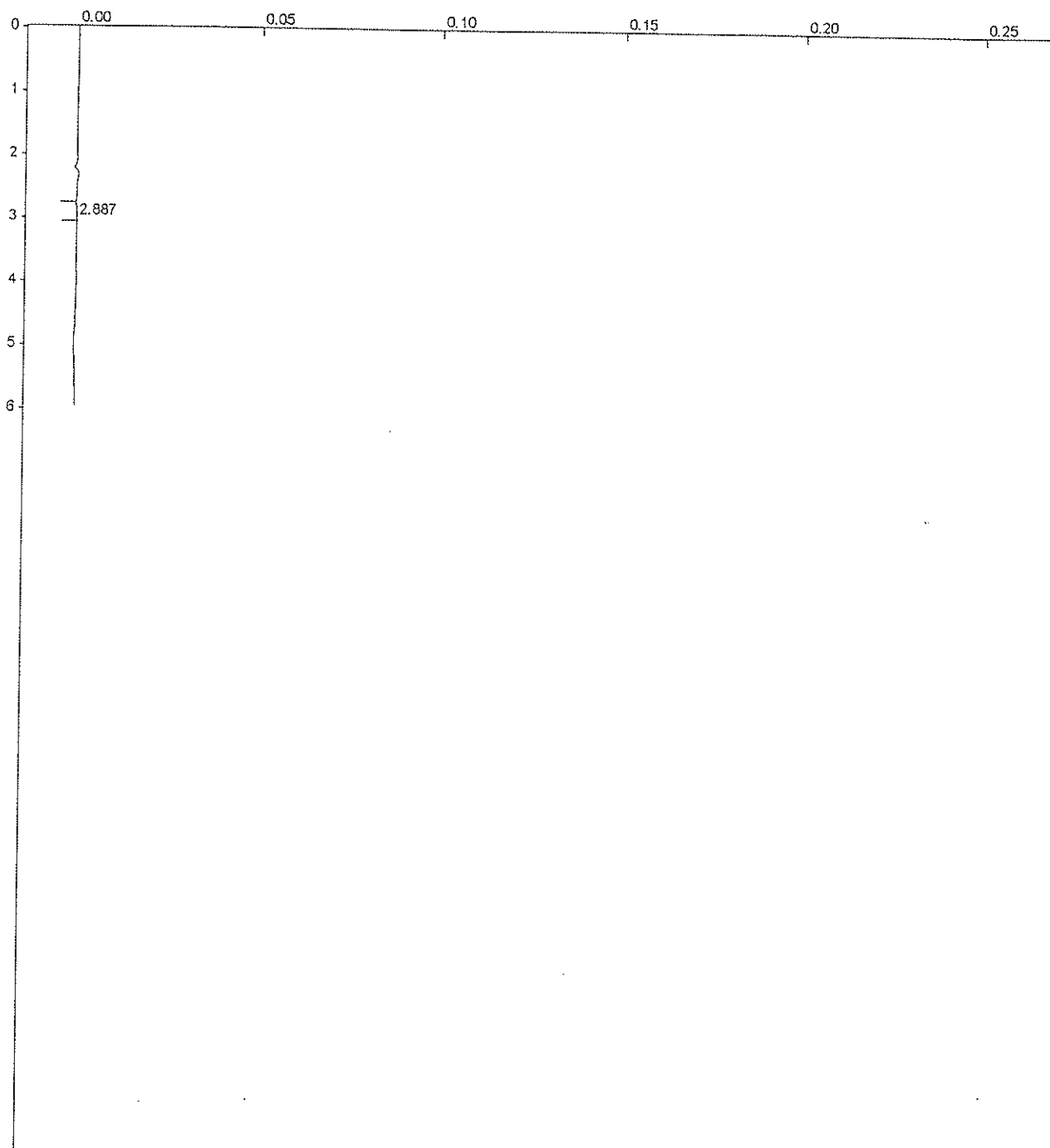
e : recherche de trace de nadolol
File : c:\star\module16\swnad092.run
od File : C:\STAR\SWNAD.MTH
le ID : Solvant

ction Date: 10-NOV-98 11:15 AM Calculation Date: 10-NOV-98 11:21 AM

ator : FS Detector Type: ADCB (1 Volt)
station: Bus Address : 16
rument : Varian-Jasco Sample Rate : 10.00 Hz
nel : A = jasco220nm Run Time : 6.002 min

***** Star Integrator ***** Version 4.51 *****

t Speed = 1.00 cm/min Attenuation = 1200 Zero Offset = 5%
t Time = 0.000 min End Time = 6.002 min Min/Tick = 1.00



t Date: Tue Nov 10 11:21:53 1998

Page 1 of 1

e : recherche de trace de nadolol
File : c:\star\module16\swnad092.run
od File : C:\STAR\SWNAD.MTH
le ID : Solvant

ction Date: 10-NOV-98 11:15 AM Calculation Date: 10-NOV-98 11:21 AM

ator : FS Detector Type: ADCB (1 Volt)
station: Bus Address : 16
rument : Varian-Jasco Sample Rate : 10.00 Hz
nel : A = jasco220nm Run Time : 6.002 min

***** Star Integrator ***** Version 4.51 *****

Mode : Analysis
Measurement: Peak Area
ulation Type: Percent

Peak Name	Result (MCG/GAZE)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
nadolol	100.00	2.887	0.000	2393	BB	0.0	M
Totals:	100.00		0.000	2393			

s Codes:
issing peak

Unidentified Counts : 2393 counts

ted Peaks: 1 Rejected Peaks: 0 Identified Peaks: 1

plier: 1 Divisor: 1

line Offset: -47 microVolts

(used): 14 microVolts - monitored before this run

. injection

handling: Reference peak not identified correctly
handling: Default to A%

Log:

ard:

al Notes:

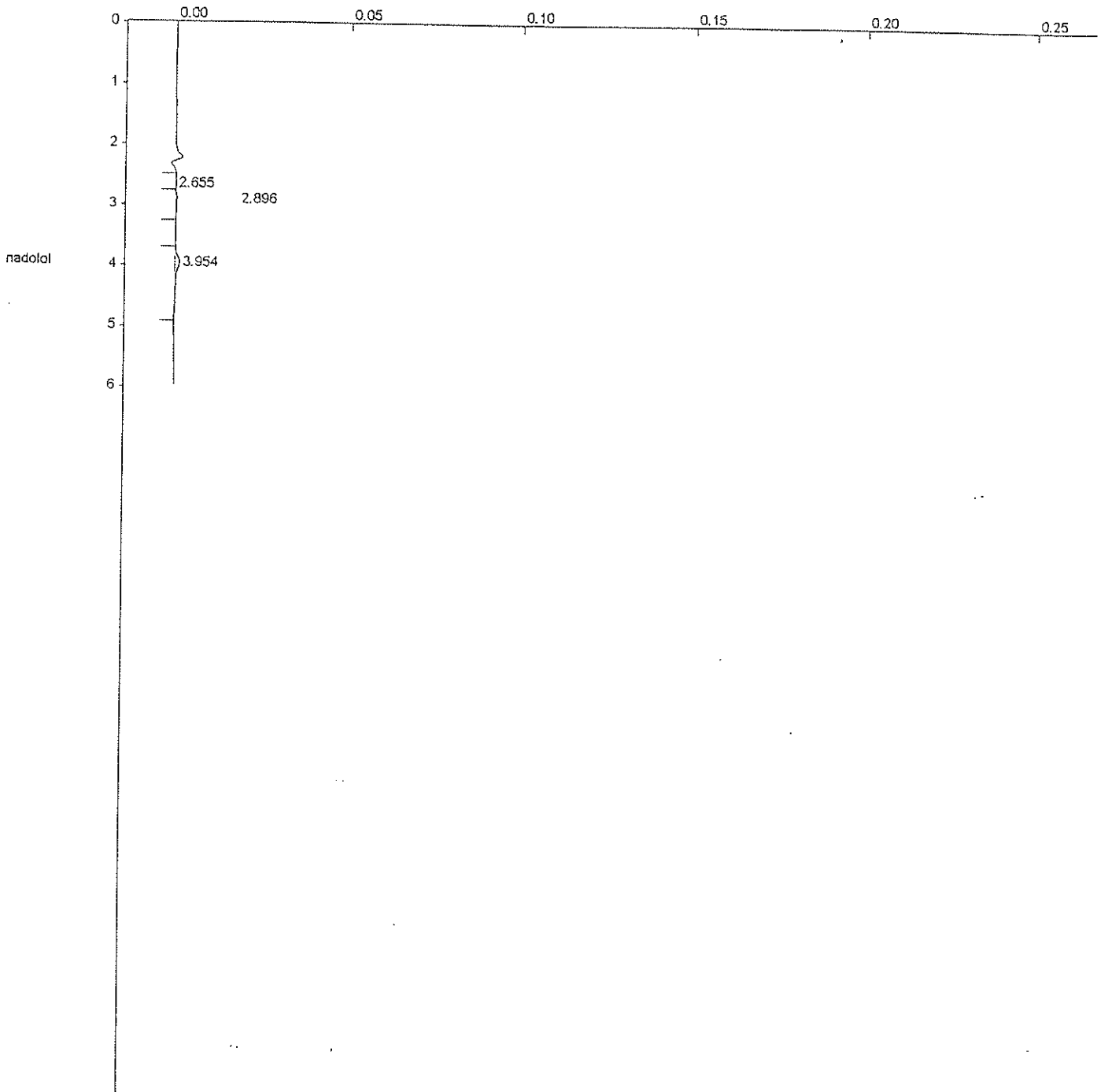
recherche de trace de nadolol
File : c:\star\module16\swnad040.run
Mod File : C:\STAR\SWNAD.MTH
Sample ID : essai detection

Injection Date: 6-NOV-98 5:25 PM Calculation Date: 6-NOV-98 5:31 PM

Integrator : FS Detector Type: ADCB (1 Volt)
Injection Station: Bus Address : 16
Instrument : Varian-Jasco Sample Rate : 10.00 Hz
Injection Channel : A = jasco220nm Run Time : 6.002 min

***** Star Integrator ***** Version 4.51 *****

Injection Speed = 1.00 cm/min Attenuation = 1200 Zero Offset = 5%
Injection Time = 0.000 min End Time = 6.002 min Min./Tick = 1.00



Print Date: Tue Nov 10 09:25:19 1998

Page 1 of 1

Sample Name : recherche de trace de nadolol
File : C:\STAR\MODULE16\SWNAD040.RUN
Method File : C:\STAR\SWNAD.MTH
Sample ID : essai detection

Injection Date: 6-NOV-98 5:25 PM Calculation Date: 6-NOV-98 5:31 PM

Detector : FS Detector Type: ADCB (1 Volt)
Station: Bus Address : 16
Instrument : Varian-Jasco Sample Rate : 10.00 Hz
Channel : A = jasco220nm Run Time : 6.002 min

***** Star Integrator ***** Version 4.51 *****

Mode : Analysis
Measurement: Peak Area
Integration Type: Percent

Peak Name	Result (MCG/GAZE)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
	4.41	2.655	0.000	1393	BP	10.1	
	12.94	2.896	0.000	4082	PB	0.0	
nadolol	82.65	3.954	-0.066	26077	BB	12.1	R
Totals:	100.00		-0.066	31552			

Is Codes:
Reference peak

Unidentified Counts : 5475 counts

Detected Peaks: 3 Rejected Peaks: 0 Identified Peaks: 1

Multiplier: 1 Divisor: 1

Baseline Offset: -167 microVolts

(used): 13 microVolts - monitored before this run

1 injection

Handling: All Coefficients for All Peaks are Zero
Handling: Default to A%

Log:

Hard:

Additional Notes:

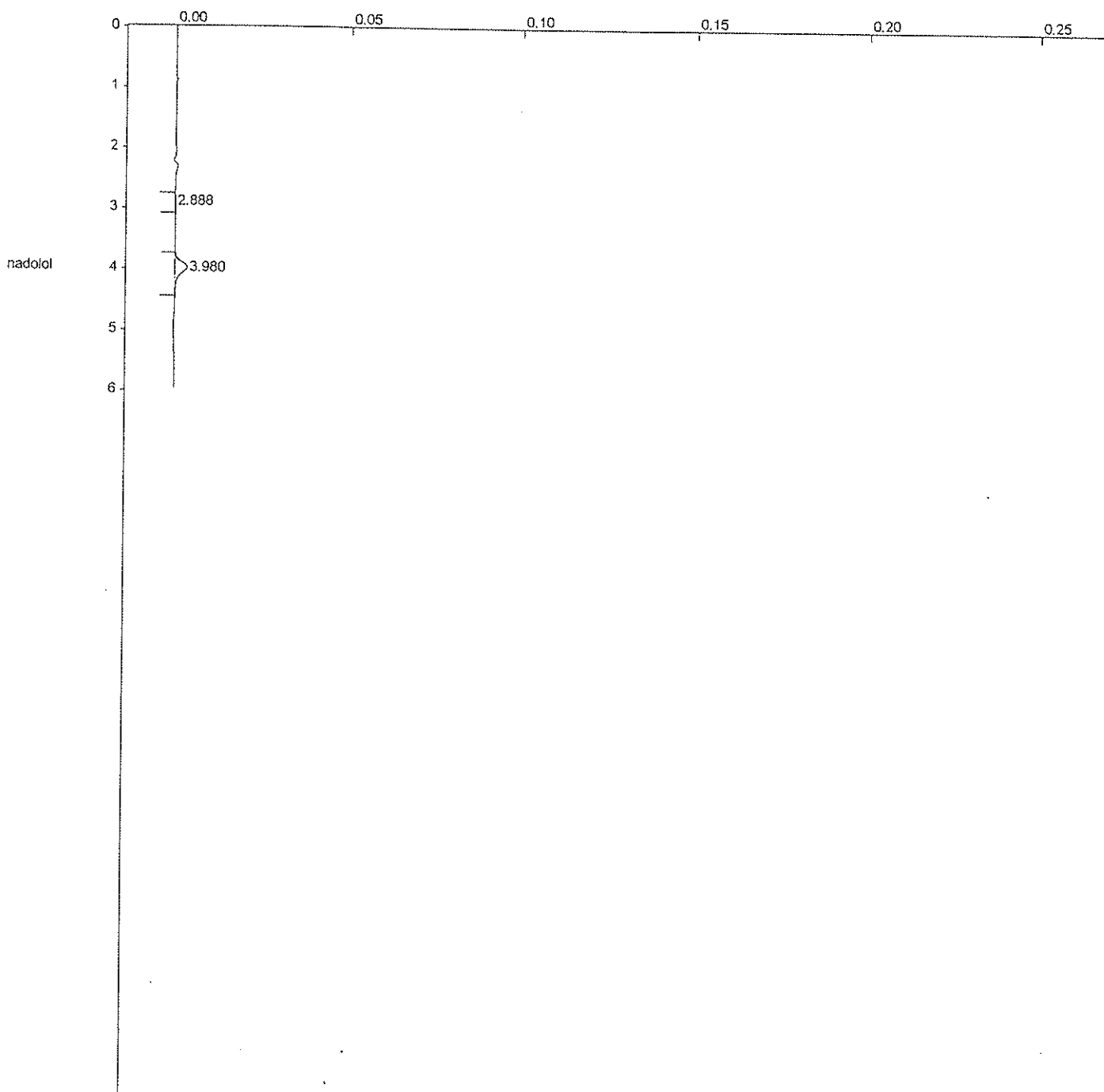
e : recherche de trace de nadolol
File : c:\star\module16\swnad101.run
od File : C:\STAR\SWNAD.MTH
le ID : Essai seuil Q3

ction Date: 10-NOV-98 12:24 PM Calculation Date: 10-NOV-98 12:30 PM

ator : FS Detector Type: ADCB (1 Volt)
station: Bus Address : 16
rument : Varian-Jasco Sample Rate : 10.00 Hz
nel : A = jasco220nm Run Time : 6.002 min

***** Star Integrator ***** Version 4.51 *****

t Speed = 1.00 cm/min Attenuation = 1200 Zero Offset = 5%
t Time = 0.000 min End Time = 6.002 min Min/Tick = 1.00



Print Date: Tue Nov 10 12:30:33 1998

Page 1 of 1

File : recherche de trace de nadolol
File : c:\star\module16\swnad101.run
Mod File : C:\STAR\SWNAD.MTH
Sample ID : Essai seuil Q3

Injection Date: 10-NOV-98 12:24 PM Calculation Date: 10-NOV-98 12:30 PM

Detector : FS Detector Type: ADCB (1 Volt)
Station: Bus Address : 16
Instrument : Varian-Jasco Sample Rate : 10.00 Hz
Channel : A = jasco220nm Run Time : 6.002 min

***** Star Integrator ***** Version 4.51 *****

Mode : Analysis
Measurement: Peak Area
Calculation Type: Percent

Peak Name	Result (MCG/GAZE)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
	4.59	2.888	0.000	2258	BB	0.0	
nadolol	95.41	3.980	-0.040	46952	BB	11.7	R
Totals:	100.00		-0.040	49210			

Status Codes:
Reference peak

Unidentified Counts : 2258 counts

Detected Peaks: 2 Rejected Peaks: 0 Identified Peaks: 1

Multiplier: 1 Divisor: 1

Baseline Offset: -275 microVolts

(used): 12 microVolts - monitored before this run

1 injection

Handling: All Coefficients for All Peaks are Zero
Handling: Default to A%

Log:

Hard:

Additional Notes:

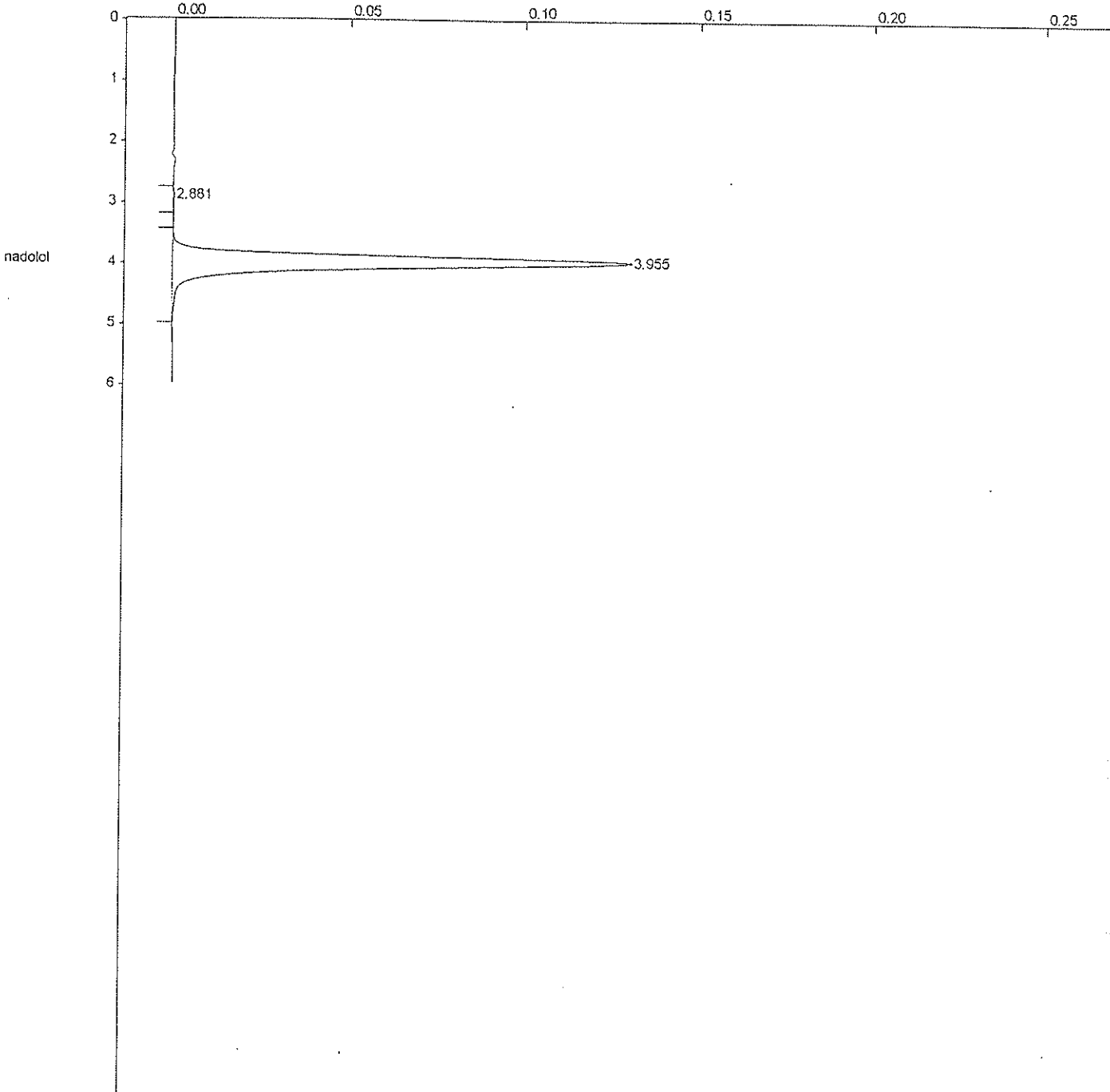
Sample Name : recherche de trace de nadolol
File : c:\star\module16\swnad095.run
Method File : C:\STAR\SWNAD.MTH
Sample ID : Standard 2

Injection Date: 10-NOV-98 11:38 AM Calculation Date: 10-NOV-98 11:44 AM

Detector : FS Detector Type: ADCB (1 Volt)
Station : Bus Address : 16
Instrument : Varian-Jasco Sample Rate : 10.00 Hz
Wavelength : A = jasco220nm Run Time : 6.002 min

***** Star Integrator ***** Version 4.51 *****

Flow Rate = 1.00 cm/min Attenuation = 1200 Zero Offset = 5%
Start Time = 0.000 min End Time = 6.002 min Min./Tick = 1.00



Print Date: Tue Nov 10 11:44:45 1998

Page 1 of 1

Sample Name : recherche de trace de nadolol
File : c:\star\module16\swnad095.run
Method File : C:\STAR\SWNAD.MTH
Sample ID : Standard 2

Acquisition Date: 10-NOV-98 11:38 AM Calculation Date: 10-NOV-98 11:44 AM

Detector : FS Detector Type: ADCB (1 Volt)
Station: Bus Address : 16
Instrument : Varian-Jasco Sample Rate : 10.00 Hz
Channel : A = jasco220nm Run Time : 6.002 min

***** Star Integrator ***** Version 4.51 *****

Mode : Analysis
Measurement: Peak Area
Integration Type: Percent

Peak Name	Result (MCG/GAZE)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
nadolol	0.21	2.881	0.000	3790	BB	0.0	
	99.79	3.955	-0.065	1803526	BB	11.9	R
Totals:	100.00		-0.065	1807316			

Status Codes:
Reference peak

Unidentified Counts : 3790 counts

Detected Peaks: 2 Rejected Peaks: 0 Identified Peaks: 1

Multiplier: 1 Divisor: 1

Baseline Offset: -122 microVolts

(used): 15 microVolts - monitored before this run

Injection

Integration: All Coefficients for All Peaks are Zero
Integration: Default to A%

Log:

Standard:

Additional Notes:

ANNEXE 8 : feuilles de résultats « swab » pour :

- la presse
- le compacteur
- granulateur / sécheur
- la centrale de pesée
- les containers

SWAB

FABRICATION

Demande effectuée par :

Produit(s) de nettoyage : eau + alcool

Produit précédent :

Nettoyage n° effectué le :

CONTROLE IN PROCESS

Prélèvement effectué le :

Recherche :

Initiales :

Gaze humide : Gaze sèche :

LABORATOIRE D'ANALYSES

Analyse effectuée le :

Analyse vérifiée le :

Initiales :

Initiales :

Analyse effectuée selon le M.O.T :

Presse P 2100 salle 450	En contact	Sans contact	Résultats (mg/gaze)	Normes	Observations
Prémie poudre	+				
Boulotte d'évacuation cps	+				
Flomatic	+				
Capots de protection des boîtes supérieures		+			
Capots d'aspiration		+			
Boîtiers	+				
Plateau	+				
Boîte		+			
Boîte atex	+				
Boîte stalchek	+				
Boîte élévateur	+				
Boîte cheminée d'alimentation	+				
Boîtes	+				
Boîte		+			
Boîte		+			

SWAB

FABRICATION

Demande effectuée par :

Produit(s) de nettoyage : eau + alcool

Produit précédent :

Nettoyage n°1 effectué le :

CONTROLE IN PROCESS

Prélèvement effectué le :

Recherche :

Initiales :

Gaze humide : Gaze sèche :

LABORATOIRE D'ANALYSES

Analyse effectuée le :

Analyse vérifiée le :

Initiales :

Initiales :

Analyse effectuée selon le M.O.T :

Compacteur salle 451	En contact	Sans contact	Résultats (mg/gaze)	Normes	Observations
émie poudre	+				
s d'alimentation	+				
uleaux	+				
ille du granulateur	+				
pillant	+				
ne	+				
ti		+			
eminée d'alimentation	+				
nnés	+				
ps	+				
re ou clapet	+				
ivercle	+				
r		+			
		+			

SWAB

FABRICATION

Demande effectuée par :

Produit(s) de nettoyage : eau + alcool

Produit précédent :

Nettoyage n°1 effectué le :

CONTROLE IN PROCESS

Prélèvement effectué le :

Recherche :

Initiales :

Gaze humide : Gaze sèche :

LABORATOIRE D'ANALYSES

Analyse effectuée le :

Analyse vérifiée le :

Initiales :

Initiales :

Analyse effectuée selon le M.O.T :

	En contact	Sans contact	Résultats (mg/gaze)	Normes	Observations
elder PMA 400 salle 124					
Aéromatic S5 salle 128					
Intérieur de la cuve	+				
anne de déchargement	+				
Intérieur		+			
Extérieur		+			
Intérieur de la cuve	+				
Intérieur	+				
Extérieur		+			
Intérieur		+			
Intérieur de la cuve	+				
Intérieur du bâti	+				

SWAB

FABRICATION

Demande effectuée par :

Produit(s) de nettoyage : eau + alcool

Produit précédent :

Nettoyage n°1 effectué le :

CONTROLE IN PROCESS

Prélèvement effectué le :

Recherche :

Initiales :

Gaze humide :

Gaze sèche :

LABORATOIRE D'ANALYSES

Analyse effectuée le :

Analyse vérifiée le :

Initiales :

Initiales :

Analyse effectuée selon le M.O.T :

Pesées salle 512	En contact	Sans contact	Résultats (mg/gaze)	Normes	Observations
Boîte du tamiseur	+				
Boîtes du tamiseur	+				
Boîte pulotte	+				
Boîte alimentée d'alimentation	+				
Boîte		+			
		+			

SWAB

FABRICATION

Demande effectuée par :

Produit(s) de nettoyage : eau

Produit précédent :

Nettoyage n°1 effectué le :

CONTROLE IN PROCESS

Prélèvement effectué le :

Recherche :

Initiales :

Gaze humide : Gaze sèche :

LABORATOIRE D'ANALYSES

Analyse effectuée le :

Analyse vérifiée le :

Initiales :

Initiales :

Analyse effectuée selon le M.O.T :

Containers	En contact	Sans contact	Résultats (mg/gaze)	Normes	Observations
Haut	+				
Bas	+				
vanne du bas	+				

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Bonnes Pratiques de Fabrication. Agence du médicament et Ministère des Affaires sociales de la Santé et de la Ville, Juin 1995.
- 2- **James Agalloco.** « Points to consider » in the validation of equipment cleaning procedures. J. Parent. Sci. Tech., 1992, 46 (5).
- 3- **Theo Berg, Paul Humphreys, Bronwyn Phillips et Bernard Scherz.** Principles of qualification and validation in pharmaceutical manufacture ; recommendations on : validation master plan, installation and operational qualification, non-sterile process validation cleaning validation. Pharmaceutical Inspection Convention, Janvier 1996, p.23-33.
- 4- **David L. Conine, Bruce D. Naumann et Lawrence H. Hecker.** Setting health-based residue limits for contaminants in pharmaceuticals and medical devices. Quality assurance : good practice, regulation and law, Juin 1992, vol.1, n°3, p.171-180.
- 5- **Gary L. Fourman, Michael V. Mullen.** Determining cleaning validation acceptance limits for pharmaceutical manufacturing operations. Pharm. Tech., Avril 1993, 17(4), p.54-60.
- 6- **Paul Y. McCormick, Leo F. Cullen.** Cleaning validation. Pharmaceutical process validation, 2nd Ed, 1993, p.319-349.
- 7- **Ruey-ching Hwang, Donna L. Kowalski et James E. Truelove.** Process Design and data analysis for cleaning validation. Pharm. Tech., Janvier 1997, p.64-68.
- 8- **Destin A. LeBlanc, Douglas D. Danforth et James M. Smith.** Cleaning technology for pharmaceutical manufacturing. Pharm. Tech., Octobre 1993, p.113-124.

- 9- **James M. Smith.** A modified swabbing technique for validation of detergent residue in CIP systems. Pharm. Tech., Janvier 1992, p.60-66.

- 10- **Douglas W. Mendenhall.** Cleaning validation. Drug development and industrial pharmacy, 1989, 15(13), p.2105-2114.

- 11- **Andreas O. Zeller.** Cleaning validation and residue limits : a contribution to current discussions. Pharm. Tech., Octobre 1993, p.70-80.

- 12- **M. Jenkins, A. J. Vanderwielen.** Cleaning validation : an overall perspective. Pharm.Tech., Avril 1994, p.60-73.

- 13- FDA : guide to inspections validation of cleaning processes. FDA, Juillet 1993.

- 14- U.S. Pharmacopeia. USP 23, NF 18. United States Pharmacopeial Convention, Inc., 1995.

- 15- Pharmacopée européenne. 3^{ie} édition. Editions du conseil de l'Europe, 1997.

- 16- The Merck Index. 11^{ie} édition. Merck and Co., Inc., 1989.

- 17- Vidal. Editions du Vidal, 1998 et 1999.

- 18- **Douglas A. Skoog, Donald M. West, F. James Holler.** Chimie analytique. Traduction de la septième édition américaine par C.Buess-Herman, J.Dauchot-Weymeers et F.Dumont. Edition DeBoeck Université, 1997.

- 19- **Daniel Schwartz.** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Editions Flammarion Médecine-Sciences. Collection statistiques en biologie et en médecine, 1969.

Documents internes B.M.S. :

- procédure de contrôle de la matière première Nadolol
- procédure de contrôle des comprimés de CORGARD®
- site intranet B.M.S.

Sites internet :

- <http://www.biam/>
- <http://www.ecdin/>
- <http://www.fda/>

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	8
<u>APPROCHE THEORIQUE DE LA VALIDATION DE NETTOYAGE</u>	9
<u>I. DEMARCHE D'UNE VALIDATION DE NETTOYAGE</u>	10
1. Introduction	10
2. Définitions	10
3. Prérequis à la validation	11
4. Protocole de validation	11
5. Principe de validation de nettoyage	12
5.1. Choix des divers paramètres à considérer pour la validation	13
5.1.1. Contaminants	13
5.1.2. Equipements	14
5.1.3. Critère d'acceptation	15
5.1.4. Méthode de prélèvement	16
5.1.5. Méthode d'analyse	16
5.2. Rapport de validation et revalidation	16
6. Conclusion	17
<u>II. LE NETTOYAGE</u>	18
1. Définition	18
2. Réglementation en matière de nettoyage	18
3. Caractéristiques du nettoyage	19
3.1. Traçabilité	19
3.2. Fréquence	19
4. Contrôles	20
5. Les différents modes de nettoyage	20
5.1. Nettoyages manuels	21
5.2. Nettoyages semi-automatiques	22
5.3. Nettoyages automatiques	22
5.4. Conclusion	23
6. Utilisation d'agents de nettoyage	23
7. Conclusion	24
<u>III. LES DIFFERENTES METHODES DE PRELEVEMENT</u>	25
1. Prélèvement direct de surface	25
1.1. Méthode par essuyage ou écouvillonnage	25
1.2. Méthode par contact	26
2. Prélèvement par solution de rinçage	27
3. Méthode placebo	27
4. Comparaison des différentes méthodes de prélèvement	28
4.1. Avantages et inconvénients	28
4.2. Applications	30
5. Conclusion	30

<u>IV. LES DIFFERENTES METHODES D'ANALYSE</u>	31
1. Contrôle visuel	31
2. Traitement des prélèvements	32
3. Analyse des prélèvements	32
3.1. Analyses physico-chimiques	33
3.2. Analyses microbiologiques	35
3.3. Analyses particulières	35
<u>V. RECOMMANDATIONS DE LA FDA POUR LES VALIDATIONS DE NETTOYAGE</u>	36
1. Introduction	36
2. Recommandations prescrites par la FDA	36
2.1. Procédures	36
2.2. Nettoyage et stockage du matériel	37
<u>VI. CONCLUSION</u>	38
<u>EXEMPLE DE VALIDATION DE NETTOYAGE : CONTROLE DE L'ABSENCE DE RESIDUS DE NADOLOL</u>	39
<u>I. PRESENTATION</u>	40
1. B.M.S. en quelques chiffres	40
2. Secteurs d'activité	40
3. Site de Meymac	41
<u>II. INTRODUCTION</u>	42
<u>III. LE NADOLOL</u>	42
1. Caractéristiques physico-chimiques	42
2. Spécialités B.M.S. ayant pour principe actif le Nadolol	43
3. Propriétés thérapeutiques	44
<u>IV. PROTOCOLE DE VALIDATION DE NETTOYAGE</u>	45
1. Objectif	45
2. Conditions opératoires	45
3. Equipements et locaux	46
3.1. Qualification	46
3.2. Equipements et locaux à nettoyer	46
3.3. Nettoyage	47
4. Méthode de prélèvement	47
5. Validation	49
5.1. Procédure	49
5.2. Critères d'acceptation	49
6. Détail des équipements à prélever	49
7. Calcul de l'aire de la surface de l'équipement	52
8. Calcul de la limite de Nadolol par prélèvement	54

<u>V. VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE</u>	56
1. Introduction : quelques rappels analytiques en CLHP	56
2. Conditions opératoires	59
2.1. Appareillage	59
2.2. Paramètres chromatographiques	60
2.3. Préparation des solutions	61
2.3.1. Préparation de la phase mobile	61
2.3.2. Préparation des solutions standards	61
2.3.3. Préparation des échantillons	61
3. Validation de la méthode de dosage	62
3.1. Définitions	62
3.2. Spécificité	62
3.2.1. Définition	62
3.2.2. Préparation des solutions	62
3.2.3. Résultats	63
3.3. Répétabilité	64
3.3.1. Définition	64
3.3.2. Résultats	64
3.4. Seuil de détection	65
3.4.1. Définition	65
3.4.2. Résultats	65
3.5. Seuil de quantification	66
3.5.1. Définition	66
3.5.2. Préparation des solutions	66
3.5.3. Résultats	66
3.6. Linéarité	68
3.6.1. Définition	68
3.6.2. Préparation des solutions	68
3.6.3. Résultats	68
3.7. Exactitude	70
3.7.1. Définition	70
3.7.2. Préparation des solutions	71
3.7.3. Etude du recouvrement à la limite d'acceptation	71
3.7.4. Etude du recouvrement au seuil de quantification	73
3.8. Conclusion	74
<u>VI. VALIDATION DU NETTOYAGE</u>	76
1. Préparation des solutions	77
2. Containers	77
2.1. Matériel prélevé	77
2.2. Résultats	77
2.2.1. Préparation des solutions	77
2.2.2. Analyse des prélèvements	78
3. Centrale de pesée	81
3.1. Analyse des prélèvements série 1	81
3.2. Analyse des prélèvements série 2	82
3.3. Conclusion	83
4. Granulation par voie humide	83
4.1. Granulation	83

4.1.1. Analyse des prélèvements série 1	83
4.1.2. Analyse des prélèvements série 2	84
4.1.3. Analyse des prélèvements série 3	85
4.2. Séchage	86
4.2.1. Analyse des prélèvements série 1	87
4.2.2. Analyse des prélèvements série 2	87
4.2.3. Analyse des prélèvements série 3	88
4.3. Conclusion	88
5. Granulation par voie sèche : compacteur	88
5.1. Analyse des prélèvements série 1	88
5.2. Analyse des prélèvements série 2	89
6. Compression	91
6.1. Analyse des prélèvements série 1 (presse P2100)	91
6.2. Analyse des prélèvements série 2 (presse P2100)	92
6.3. Analyse des prélèvements série 3 (presse P2000)	93
6.4. Analyse des prélèvements série 4 (presse P2100)	95
7. Conclusion	97

<u>VII. CONCLUSION</u>	97
------------------------	----

<u>ANNEXES</u>	98
----------------	----

<u>ANNEXE 1</u> : granulateur Fielder	99
<u>ANNEXE 2</u> : sécheur Aéromatic	100
<u>ANNEXE 3</u> : granulateur, sécheur et système de transfert dans le container après séchage	101
<u>ANNEXE 4</u> : compacteur Alexanderwerk	102
<u>ANNEXE 5</u> : presse Fette P2100	103
<u>ANNEXE 6</u> : validation guideline « PSV-VG-F21 » du 30 Juillet 1994	104
<u>ANNEXE 7</u> : chromatogrammes (avec feuilles de résultats)	107
<u>ANNEXE 8</u> : feuilles de résultats « swab »	116

<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	122
----------------------	-----

BON A IMPRIMER N° 343.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

SERMADIRAS Florence - Etude méthodologique de validation des procédures de nettoyage en milieu industriel pharmaceutique - 128 p., ill., tab. - (Thèse : Pharm. ; Limoges ; 1999).

RESUME

Ce travail décrit les principes de validation des procédures de nettoyage des équipements et des locaux de production dans l'industrie pharmaceutique, dans un but de maîtrise des risques de contamination croisée.

Le sujet est traité dans son ensemble depuis l'élaboration du protocole de validation définissant les critères d'acceptation, la méthode de prélèvement et d'analyse jusqu'à la rédaction du rapport de validation.

Chaque industrie est libre de concevoir sa propre méthodologie de validation selon ses activités et ses caractéristiques internes.

Dans une seconde partie, un exemple de stratégie de validation de nettoyage, mise en place dans le cadre d'une expérience industrielle au sein du groupe Bristol-Myers Squibb, est présenté pour un principe actif utilisé pour la fabrication de comprimés.

MOTS-CLES

- Contamination
 - Equipement
 - Industrie pharmaceutique
 - Limite d'acceptation
 - Prélèvement
 - Procédure de nettoyage
 - Protocole de validation
 - Validation
-

JURY

Président : Monsieur le Professeur CARDOT

Juges : Madame le Professeur CHULIA
Madame DREYFUSS, *Maître de Conférences*
Monsieur DIGONNET, *Docteur en Pharmacie*