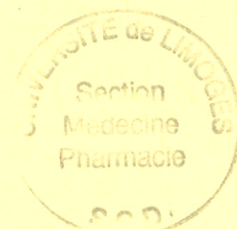


UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE 2005

THESE N° 334 / 1

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 143702 7

**LA VALIDATION DU NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS DE
PRODUCTION PAR LE DOSAGE DU CARBONE
ORGANIQUE TOTAL**

THESE

POUR LE DIPLOME D' ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

le 12 décembre 2005 à Limoges

par Aurore SENEAU

Née le 2 septembre 1980 à Romorantin-Lanthenay

JURY

Monsieur P. CARDOT, Professeur

Madame D. CHULIA, Professeur, Président du jury

Madame F. MORVAN, Docteur en pharmacie

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier les membres du jury :

Madame le Professeur Dominique CHULIA :

Professeur de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie
Université de Limoges

Pour l'honneur qu'elle me fait de présider cette thèse.

Monsieur le Professeur Philippe CARDOT :

Professeur de Chimie Analytique de la Faculté de Pharmacie
Université de Limoges

Pour sa participation comme membre du jury.

Madame Fabienne MORVAN :

Docteur en Pharmacie
Département Développement du Laboratoire Famar France

Pour son accueil au sein du Département Développement, sa disponibilité et son soutien tout au long de mon stage et de ce travail.

Je tiens à remercier également Madame Josiane MARTIN, Technicienne au Laboratoire de Microbiologie du Laboratoire Famar France, pour son aide et ses précieux conseils.

Je remercie aussi chaleureusement tous les membres des Départements Développement et Contrôle Qualité ainsi que les Responsables d'Atelier et Opérateurs de Production pour leur accueil, leur aide et leur disponibilité tout au long de ce travail.

A mes Parents,
Qui m'ont toujours soutenue et encouragée.

A mon Frère,
Pour tous les moments passés ensemble.

A Nicolas,
Pour son amour et son soutien.

A Karine,
Pour tous nos fous rires et pour m'avoir supportée pendant toutes mes études.

A Aurélie, André, Lucille et Mathilde,
Pour ces années passées à Limoges.

A tous les membres de ma famille et mes amis qui m'ont aidée et soutenue tout au long de mes études.

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE

Monsieur le Professeur **HABRIOUX** Gérard

ASSESEURS

Madame le Professeur **CHULIA** Dominique

Monsieur **COMBY** Francis, Maître de Conférences

PROFESSEURS

BENEYTOUT Jean-Louis

BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE

BOTINEAU Michel

BOTANIQUE – CRYPTOLOGAMIE

BROSSARD Claude

PHARMACIE GALENIQUE

BUXERAUD Jacques

CHIMIE ORGANIQUE – CHIMIE THERAPEUTIQUE

CARDOT Philippe

CHIMIE ANALYTIQUE

CHULIA Albert

PHARMACOGNOSIE

CHULIA Dominique

PHARMACIE GALENIQUE

DELAGE Christiane

CHIMIE GENERALE – CHIMIE MINERALE

DREYFUSS Gilles

PARASITOLOGIE

DUROUX Jean-Luc

PHYSIQUE – BIOPHYSIQUE

GHESTEM Axel

BOTANIQUE – CRYPTOLOGAMIE

HABRIOUX Gérard

BIOCHIMIE FONDAMENTALE

LACHATRE Gérard

TOXICOLOGIE

MOESCH Christian

HYGIENE – HYDROLOGIE – ENVIRONNEMENT

OUDART Nicole

PHARMACODYNAMIE

ROGEZ Sylvie

BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE

MAITRES DE CONFERENCES

ALLAIS Daovy	PHARMACOGNOSIE
BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE
CARDI Patrice	PHYSIOLOGIE
CLEDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE
COMBY Francis	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DELEBASSEE Sylvie	BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE
DREYFUSS Marie-Françoise	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
EA KIM Leng	PHARMACODYNAMIE
FAGNERE Catherine	CHIMIE ORGANIQUE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE – CRYPTOLOGIE
FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE
JAMBUT Anne Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE
LARTIGUE Martine	PHARMACODYNAMIE
LIAGRE Bertrand	SCIENCES BIOLOGIQUES
LOTFI Hayat	TOXICOLOGIE
MARION-THORE Sandrine	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MOREAU Jeanne	IMMUNOLOGIE
PARTOUCHE Christian	PHYSIOLOGIE
POUGET Christelle	PHARMACIE GALENIQUE
ROUSSEAU Annick	BIOMATHEMATIQUES
SIMON Alain	CHIMIE PHYSIQUE – CHIMIE MINERALE
TROUILLAS Patrick	BIOMATHEMATIQUES – INFORMATIQUE
VIANA Marylène	PHARMACIE GALENIQUE
VIGNOLES Philippe	INFORMATIQUE

PROFESSEUR ASSOCIE

BAMBA Moriféré

PROFESSEUR CERTIFIE

MARBOUTY Jean-Michel ANGLAIS

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	11
PARTIE I : BIBLIOGRAPHIE	12
INTRODUCTION	13
1. DEFINITIONS (15)	14
2. LA CONTAMINATION	15
2.1. Nature des contaminants (19).....	15
2.1.1. La contamination chimique	15
2.1.2. La contamination microbiologique.....	15
2.1.3. La contamination particulaire	16
2.2. Sources des contaminants	16
3. LE NETTOYAGE	17
3.1. Les méthodes de nettoyage (15).....	17
3.1.1. Nettoyage manuel	17
3.1.2. Nettoyage semi-automatique	18
3.1.3. Nettoyage automatique	18
3.2. Les solvants de nettoyage.....	19
3.3. Les détergents (14, 15).....	19
3.3.1. Les détergents alcalins	20
3.3.2. Les détergents acides	20
3.3.3. Les agents chélateurs ou séquestrants.....	20
3.3.4. Les tensioactifs ou agents de surface.....	20
4. LA VALIDATION DU NETTOYAGE	22
4.1. Définition (15).....	22
4.2. Pourquoi valider le nettoyage.....	22
4.3. Le contexte réglementaire	22
4.3.1. Historique et contexte américain (8, 15).....	22
4.3.2. Guide européen des Bonnes Pratiques de Fabrication (17)	23
4.4. Mise en œuvre de la validation	24
4.4.1. Définition de la politique d'entreprise (15)	24
4.4.2. Détermination de la stratégie (13)	25
4.4.3. Détermination de la méthodologie.....	28
4.4.4. Conditions pré requises à la validation du nettoyage (15, 19, 23).....	28
4.4.4.1. Objectifs	28
4.4.4.2. Configuration et utilisation des locaux et des équipements	29
4.4.4.3. Qualification des locaux et des équipements.....	29
4.4.4.4. Qualification du personnel	29
4.4.4.5. Qualification du matériel et des agents de nettoyage	29
4.4.4.6. Procédures de nettoyage optimisées	30
4.5. Méthodologie générale de la validation du nettoyage.....	31
4.5.1. Méthode de groupage (2).....	31
4.5.1.1. Principe.....	31
4.5.1.2. Etat des lieux	31
4.5.1.3. Méthodologie.....	33
4.5.1.4. Avantages et inconvénients des méthodes de groupage.....	35
4.5.2. Détermination du critère d'acceptation chimique (9, 11, 15).....	35

4.5.2.1. Principe.....	35
4.5.2.2. Critère du millième (19).....	36
4.5.2.3. Le critère des 10 ppm.....	37
4.5.2.4. Critère basé sur la toxicité du contaminant.....	37
4.5.2.5. Critère basé sur les données pharmacologiques.....	38
4.5.3. Les prélèvements.....	39
4.5.3.1 Le contrôle visuel.....	39
4.5.3.2. Les méthodes de prélèvement.....	39
4.5.3.3. Comparaison des différentes méthodes de prélèvement.....	40
4.5.4. Choix des méthodes analytiques (6, 7, 15, 23).....	42
4.5.4.1. Les méthodes simples et rapides.....	43
4.5.4.2. Les méthodes élaborées.....	43
4.5.5. Le support documentaire.....	46
4.5.5.1. Procédure de nettoyage (15).....	46
4.5.5.2. Feuille de suivi de nettoyage.....	47
4.5.5.3. Plan directeur de validation.....	47
4.5.5.4 Procédure générale de validation de nettoyage.....	47
4.5.5.5. Protocole de validation de nettoyage.....	47
4.5.5.6. Rapport de validation.....	48
5. LE DOSAGE DU CARBONE ORGANIQUE TOTAL (COT).....	49
5.1. Définitions (1).....	49
5.2. Aspect réglementaire (8).....	50
5.3. Utilisation du COT pour valider le nettoyage (22).....	50
5.3.1. Les sources de carbone organique.....	51
5.3.2. Avantages du COT dans la validation du nettoyage.....	51
5.3.3. Inconvénients du COT dans la validation du nettoyage.....	52
5.4. Principe du dosage du Carbone Organique Total (COT).....	53
5.4.1. Méthode directe de mesure du COT.....	53
5.4.2. Méthode indirecte de mesure du COT.....	54
5.5. Détection du dioxyde de carbone par mesure de la conductivité.....	55
5.5.1. Définition de la conductivité.....	55
5.5.2. Principe de mesure de la conductivité.....	56
5.5.2.1. Conductivité directe.....	56
5.5.2.2. Conductivité indirecte avec membrane.....	56
PARTIE II : APPLICATION AUX EQUIPEMENTS DE PRODUCTION POUR FORMES SECHES.....	58
INTRODUCTION.....	59
1. MISE EN PLACE DE LA STRATEGIE DE VALIDATION DU NETTOYAGE.....	60
1.1. Etat des lieux.....	60
1.1.1. Les procédures de nettoyage.....	60
1.1.2. Les équipements.....	60
1.1.2.1. Schémas des équipements (cf. annexes 1 et 2).....	60
1.1.2.2. Dimensions des équipements.....	60
1.1.2.3. Matériaux composant l'équipement.....	60
1.1.2.4. Regroupement.....	61
1.1.3. Les produits.....	61
1.1.3.1. Caractéristiques des produits.....	61
1.1.3.2. Détermination des produits critiques ou «pires des cas».....	62
1.2. Réalisation d'une matrice produits-équipements.....	62

1.3. Détermination des produits critiques par équipement.....	63
1.4. Choix des contaminants à rechercher.....	64
1.5. Choix du critère d'acceptation	65
1.5.1. Critère visuel.....	65
1.5.2. Critère des 10 ppm.....	65
1.6. Calcul de la Concentration Maximale Acceptable (CMA).....	65
1.7. Choix des méthodes de prélèvement.....	67
1.7.1. Détermination des points de prélèvement.....	67
1.7.2. Méthodes de prélèvement utilisées pour des équipements de production.....	67
1.7.2.1. Prélèvement par écouvillonnage (cf. annexe 5)	68
1.7.2.2. Prélèvement par rinçage	69
1.7.2.3. Prélèvement par trempage	69
1.8. Dosage du Carbone Organique Total (COT).....	70
1.8.1. L'analyseur de COT (21, 22).....	70
1.8.1.1. Présentation	70
1.8.1.2. Principe de l'analyseur COT Sievers 2244 AP	71
1.8.1.3. Caractéristiques techniques du COT-mètre Sievers 2244 AP.....	72
1.8.1.4. Description des éléments du système	72
1.8.2. Qualification de l'appareil	77
1.8.2.1. Les gammes d'étalonnage	77
1.8.2.2. Le test de conformité	77
2. VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE DU COT	79
2.1. Paramètres à valider (4, 6, 7)	79
2.1.1. Définitions	79
2.1.2. Exigences.....	80
2.2. Essais de validation.....	81
2.2.1. La sélectivité.....	81
2.2.2. La linéarité.....	81
2.2.3. Limites de détection et quantification.....	83
2.2.4. La répétabilité	84
2.2.5. La stabilité des solutions.....	84
2.3. Résultats des tests de validation.....	86
3. VALIDATION DES METHODES DE PRELEVEMENT (5).....	87
3.1. Taux de recouvrement.....	87
3.1.1. Définition.....	87
3.1.2. Conditions de réalisation	87
3.1.3. Valeur du taux de recouvrement (16)	88
3.1.4. Détermination du taux de recouvrement des prélèvements par écouvillonnage	88
3.2. Répétabilité de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.....	91
3.3. Résultats des tests de validation.....	91
4. DISCUSSION.....	92
4.1. Mise en place de la validation du nettoyage	92
4.1.1. Apports de la validation du nettoyage	92
4.1.2. Points critiques de la validation du nettoyage	93
4.2. Utilisation du COT pour valider le nettoyage	94
CONCLUSION GENERALE.....	95
BIBLIOGRAPHIE.....	96
ANNEXES.....	98

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Diagramme de causes-effets d'Ishikawa.....	16
Figure 2 : Structure d'un tensioactif.....	21
Figure 3 : Arbre décisionnel pour le choix de la méthodologie de la validation du nettoyage.....	27
Figure 4 : Arbre décisionnel pour le choix d'une méthode de prélèvement.....	41
Figure 5 : Schéma de l'écouvillon ALPHA.....	68
Figure 6 : Schéma du mode de prélèvement par écouvillonnage.....	68
Figure 7 : Principe de l'analyseur COT Sievers 2244 AP.....	71
Figure 8 : Droite de régression.....	82

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Avantages et inconvénients de la validation du nettoyage.....	26
Tableau II : Rattachement des produits et des équipements de fabrication.....	33
Tableau III : Classement des produits selon le critère nettoyabilité.....	33
Tableau IV : Avantages et inconvénients des méthodes de groupage.....	35
Tableau V : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de prélèvement.....	40
Tableau VI : Application des différentes méthodes d'analyse.....	45
Tableau VII : Matrice produits-équipements.....	62
Tableau VIII : Classement des produits selon leur criticité.....	63
Tableau IX : Matrice équipements-produits critiques.....	63
Tableau X : Surfaces des équipements et plus petites tailles de lot.....	66
Tableau XI : Débits d'acide recommandés par le fournisseur.....	73
Tableau XII : Débits d'oxydant recommandés par le fournisseur.....	74
Tableau XIII : Exigences requises pour la validation de la méthode analytique COT....	80
Tableau XIV : Résultats de l'analyse de la gamme de linéarité.....	81
Tableau XV : Résultats de l'analyse des « blancs swab ».....	83
Tableau XVI : Résultats de la répétabilité.....	84
Tableau XVII : Résultats du test de stabilité des échantillons.....	85
Tableau XVIII : Résultats des tests de validation de la méthode de dosage du COT....	86
Tableau XIX : Concentration en COT des échantillons d'eau en fonction de la concentration des solutions de principe actif déposées.....	89

Tableau XX : Résultats des taux de recouvrement de la méthode de prélèvement par écouvillonnage.....	90
Tableau XXI : Résultats de la répétabilité du taux de recouvrement.....	91
Tableau XXII : Résultats des tests de validation de la méthode de prélèvement.....	91

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : Schéma d'un conteneur de 2650 litres avec les points de prélèvement.....	98
ANNEXE 2 : Schéma du mélangeur Collette MPH avec les points de prélèvement.....	99
ANNEXE 3 : Schéma de l'analyseur de COT modèle 2244 AP.....	100
ANNEXE 4 : Analyseur de COT Siervers.....	101
ANNEXE 5 : Prélèvement par écouvillonnage.....	101

INTRODUCTION GENERALE

L'industrie pharmaceutique se doit de produire des médicaments de qualité, conformes au dossier réglementaire et exempts de substance(s) étrangère(s). Le nettoyage des équipements de production et des locaux fait partie des opérations déterminantes pour atteindre cet objectif.

La validation du nettoyage, apparue dans l'industrie pharmaceutique dans le but de diminuer les risques de contamination croisée entre produits, est aujourd'hui devenue une exigence réglementaire.

Par conséquent, l'industrie pharmaceutique soumise aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF), ou souhaitant obtenir l'agrément de la Food and Drug Administration (FDA), doit s'investir dans la validation du nettoyage, en quantifiant les résidus de contaminants présents sur les équipements après nettoyage.

Parmi les différentes méthodes analytiques pouvant être utilisées pour le dosage des résidus, le dosage du Carbone Organique Total (COT), permet de quantifier les composés contenant du carbone, ce qui inclut la plupart des contaminants rencontrés au niveau des procédés de fabrication pharmaceutique.

Cette technique, bien que non spécifique, est acceptée depuis peu par la FDA pour la validation du nettoyage des équipements de production. Les contaminants recherchés doivent cependant être constitués majoritairement de carbone et être solubles dans l'eau.

La première partie de cette thèse est un travail bibliographique consacré :

- à la définition de la contamination et des activités de nettoyage ;
- à la méthodologie générale de la validation du nettoyage ;
- et au principe de dosage du Carbone Organique Total (COT).

La seconde partie est une application pratique de la validation du nettoyage aux équipements de production pour formes sèches, comprenant :

- la mise en place de la stratégie de validation par une méthode de groupage ;
- la validation de la méthode de dosage du Carbone Organique Total (COT) ;
- et la validation de la méthode de prélèvement des résidus de contaminants.

PARTIE I : BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Dans cette partie bibliographique, nous verrons quelles sont les sources et la nature des contaminants rencontrés dans l'industrie pharmaceutique. Puis nous aborderons les différentes techniques de nettoyage et les agents de nettoyage pouvant être utilisés.

Puis nous tenterons de répondre aux questions suivantes : pourquoi et comment valider un procédé de nettoyage ?

Une méthodologie de validation de nettoyage sera présentée ; les différentes étapes menant à l'élaboration du protocole de validation ainsi que les points critiques seront développés.

Nous décrirons ensuite une méthode de dosage des résidus de contaminants : le dosage du Carbone Organique Total (COT).

Nous verrons pourquoi cette méthode bien que non spécifique, tend à remplacer, dans les validations de nettoyage, les méthodes classiques (chromatographie sur couche mince ou en phase liquide).

1. DEFINITIONS (15)

Contamination :

Présence d'un élément indésirable dans un fluide, sur une surface ou dans un espace protégé. Cet élément entraîne une perturbation d'ordre qualitatif ou quantitatif d'une opération précise dans laquelle intervient le fluide, la surface ou l'espace contaminé. La perturbation peut être observée immédiatement ou se révéler seulement par la suite. Dans le cadre d'une contamination biologique, on utilisera le terme biocontamination.

Nettoyage :

Le nettoyage est d'une manière générale une opération qui consiste à éliminer d'une surface donnée, toute souillure visible ou invisible, pouvant s'y trouver.

Point critique :

Zone ou emplacement dans un système soumis à nettoyage où la perte de maîtrise peut entraîner un risque de contamination et/ou un risque inacceptable pour la sécurité (opérateur, produit, équipement, environnement). Les points critiques sont déterminés par raisonnement et/ou par expérience. Ils ne sont pas figés et la validation peut nous enseigner une meilleure connaissance des points critiques.

Spécifications :

Elles décrivent en détail les exigences auxquelles doivent répondre les produits utilisés ou obtenus au cours de la fabrication. Elles servent de base à l'évaluation de la qualité.

Validation :

Etablissement de la preuve, en conformité avec les BPF, 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.

2. LA CONTAMINATION

2.1. Nature des contaminants (19)

Il existe trois types de contamination :

- ❑ la contamination chimique ;
- ❑ la contamination microbiologique ;
- ❑ la contamination particulaire.

2.1.1. La contamination chimique

La contamination chimique est représentée principalement par les principes actifs, les excipients et les agents de nettoyage.

Le passage d'une substance chimique, d'un produit vers un autre, est appelé contamination croisée. C'est la non conformité la plus critique qu'il est possible de rencontrer dans l'industrie pharmaceutique.

Deux mécanismes peuvent conduire à une contamination croisée :

- ❑ la « contamination successive » : la production du produit B se fait après celle du produit A. Cette contamination est due à un mauvais nettoyage des équipements de production ;
- ❑ la « contamination simultanée » : les produits A et B sont fabriqués en même temps dans deux emplacements différents. Ce n'est plus le nettoyage qui est en cause, mais une mauvaise organisation au sein de l'unité de production.

2.1.2. La contamination microbiologique

On parle de contamination microbiologique lorsqu'il y a introduction de micro-organismes dans le produit au cours des manipulations ; elle est appréciée selon les cas par le dénombrement de germes totaux et/ou de germes spécifiés.

Cette contamination est principalement d'origine humaine. Les vecteurs de cette contamination sont principalement :

- la peau et ses desquamations ;
- la sphère oro-pharyngée (la parole et les éternuements qui produisent un aérosol de gouttelettes).

2.1.3. La contamination particulière

Ces contaminants peuvent provenir des équipements de production, des équipements annexes, de la maintenance, du personnel ou de l'atmosphère ambiante.

2.2. Sources des contaminants

Si l'on construit le diagramme causes-effets d'Ishikawa, on peut avoir un aperçu panoramique et complet sur les différentes origines de la contamination.

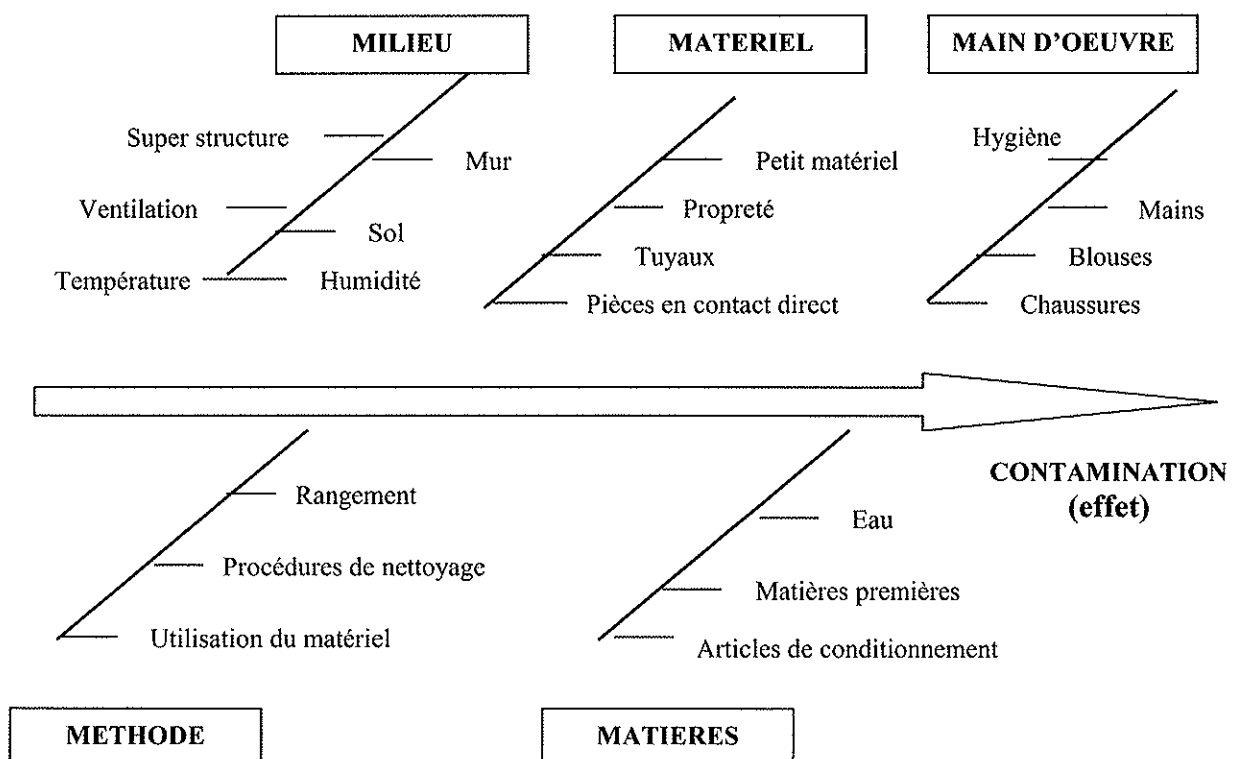


Figure 1 : Diagramme de causes-effets d'Ishikawa. (3)

3. LE NETTOYAGE

Le nettoyage vise généralement à éliminer, à l'aide d'un produit détergent, les souillures qui adhèrent à un support.

Le nettoyage est un ensemble complexe de mécanismes physiques et chimiques survenant entre les trois éléments : surface, souillure et solution détergente.

Il combine deux phénomènes majeurs :

- ❑ l'action mécanique ;
- ❑ l'action chimique, détergente : désagrégation, émulsification et dispersion de la souillure.

3.1. Les méthodes de nettoyage (15)

Une méthode de nettoyage doit satisfaire à trois exigences :

- ❑ éliminer la souillure ;
- ❑ ne pas altérer le support ;
- ❑ ne pas être un facteur de contamination ni un vecteur de transfert de contamination.

Les méthodes de nettoyage les plus « radicales » sont souvent les plus agressives pour les revêtements et les plus contaminantes pour l'environnement.

On recense 3 types de méthodes de nettoyage

- ❑ méthode manuelle ;
- ❑ méthode semi-automatique ;
- ❑ méthode automatique.

3.1.1. Nettoyage manuel

Le nettoyage manuel est typiquement défini comme le nettoyage direct d'un équipement par un opérateur utilisant divers outils et agents de nettoyage.

Cette méthode est donc susceptible de faire appel à l'emploi :

- d'écouvillons rotatifs ;
- de textiles spéciaux ;
- de jets sous pression ;
- d'ultrasons pour des parties spécifiques.

De telles méthodes, accompagnées de procédures bien pensées et bien écrites, appliquées par un personnel qualifié et formé, conduisent souvent à de meilleurs résultats que ceux obtenus par l'utilisation de méthodes automatisées.

Bien qu'un inconvénient demeure, à savoir le risque de non-reproductibilité, ce dernier peut être limité par une formation et un soutien documentaire adéquat. Les opérateurs doivent être bien formés, évalués et faire l'objet d'une supervision périodique. (17)

3.1.2. Nettoyage semi-automatique

Ce mode de nettoyage, proche du nettoyage manuel, requiert souvent des équipements plus sophistiqués. L'automatisation permet, ici, d'atteindre un niveau de propreté reproductible.

C'est un enchaînement d'opérations manuelles et automatiques (préparation de solutions détergentes, démontage partiel pour la mise en place du système de lavage, pré-rinçages manuels, etc.)

3.1.3. Nettoyage automatique

Le nettoyage automatisé, comme l'indique son nom, ne requiert aucune intervention du personnel et est habituellement programmé pour différents cycles.

C'est une opération qui consiste à nettoyer un équipement, sans démontage préalable, par aspersion ou circulation d'un fluide. Les différentes opérations de rinçage ou de traitement chimique, thermique ou mécanique, s'enchaînent dans des conditions déterminées. Les fluides proviennent d'une station de nettoyage en place, souvent pilotée par un automate programmable qui permet de réaliser de façon reproductible le nettoyage. Ce sont des méthodes qui offrent l'immense avantage d'être reproductibles.

3.2. Les solvants de nettoyage

Le principal solvant couramment utilisé pour les opérations de nettoyage est l'eau, dont la qualité varie en fonction des opérations à mener.

- ❑ Pour les opérations de prélavage et de lavage, l'eau brute est généralement suffisante.
- ❑ Pour les étapes de rinçage, spécialement le rinçage final, l'eau purifiée ou l'eau pour préparation injectable est souvent spécifiée.

La qualité de l'eau utilisée doit être définie et justifiée et les systèmes d'approvisionnement d'eau pour le nettoyage doivent être qualifiés.

Dans certains cas, le solvant tout seul ne suffit pas pour éliminer les résidus de contaminant : des agents de nettoyage (détergents) doivent alors être utilisés.

3.3. Les détergents (14, 15)

L'efficacité du nettoyage est la résultante de la mise en œuvre combinée des quatre facteurs suivants :

- ❑ action chimique ;
- ❑ action mécanique ;
- ❑ action de la température ;
- ❑ action du temps.

L'action chimique fait le plus souvent intervenir un produit détergent. Toutefois, l'objectif du nettoyage n'est pas d'introduire, dans cette étape, une nouvelle source de contamination qu'est le détergent, quand ce dernier ne s'avère pas strictement nécessaire.

Ainsi, s'il est démontré que l'eau est jugée suffisante pour réduire les traces de contaminant au-dessous de la limite fixée, aucune adjonction de détergent n'est faite, supprimant ainsi cette source de contamination potentielle.

Quand l'eau n'est pas suffisante pour assurer un nettoyage efficace, on recherche d'abord, pour une meilleure efficacité, un produit de base tel qu'un solvant, un acide ou un alcalin, ceci afin de limiter le nombre de contaminants potentiels.

Les agents de nettoyage utilisés sont :

- ❑ des agents à caractère alcalin ;
- ❑ des agents à caractère acide ;
- ❑ des produits acides ou alcalins renfermant des tensioactifs ;
- ❑ des agents tensioactifs seuls ou combinés à des complexants.

3.3.1. Les détergents alcalins

Les agents alcalins permettent, grâce à leurs caractéristiques physico-chimiques, d'éliminer des souillures organiques de différentes natures. Les produits utilisés sont de nature variable, de la formulation la plus simple (potasse) aux formulations les plus élaborées renfermant des agents minéraux, séquestrants, tensioactifs et dispersants.

3.3.2. Les détergents acides

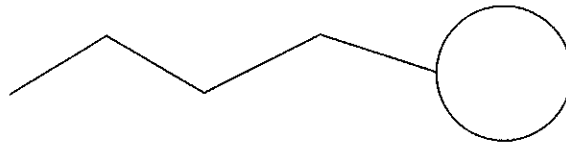
Les agents à caractère acide s'adressent à des souillures minérales. Des solutions d'acide nitrique, phosphorique, voire citrique, ou des mélanges d'acides seront le plus souvent utilisés. Ces solutions peuvent être renforcées avec des tensioactifs compatibles en milieu acide.

3.3.3. Les agents chélateurs ou séquestrants

Les agents chélateurs ou séquestrants empêchent la précipitation et la formation du tartre et améliorent le rendement des produits de nettoyage.

3.3.4. Les tensioactifs ou agents de surface

Les tensioactifs ou agents de surface sont composés d'une chaîne carbonée hydrophobe droite ou faiblement ramifiée et d'un ou plusieurs groupements solubilisants hydrophiles.



Chaîne carbonée lipophile

Tête hydrophile

Figure 2 : Structure d'un tensioactif

Il existe différents types de tensioactifs en fonction de la charge électrique de la « tête » hydrophile en solution dans l'eau :

- ❑ Charge négative \Rightarrow tensioactif anionique
- ❑ Charge positive \Rightarrow tensioactif cationique
- ❑ Charge variable en fonction du pH \Rightarrow tensioactif amphotère
- ❑ Sans dissociation \Rightarrow tensioactif non ionique

L'addition d'un agent tensioactif dans une solution provoque une accumulation préférentielle de celui-ci aux interfaces. Les groupements hydrophobes, étant orientés vers l'extérieur de la solution, provoquent la formation d'une couche apolaire dont la tension superficielle est largement inférieure à celle de l'eau pure.

La présence d'un agent de surface confère à la solution des propriétés :

- ❑ mouillantes (abaissent la tension superficielle de l'eau et améliorent l'effet de pénétration) ;
- ❑ émulsionnantes (favorisent la mise en émulsion des corps gras) ;
- ❑ dispersantes (favorisent la mise en suspension des matières solides, par exemple les poussières et les fibres).

Les tensioactifs anioniques sont utilisés pour leur excellente propriété détergente. Les tensioactifs non ioniques sont les plus utilisés du fait de leur efficacité en eaux dures et dans une large gamme de pH.

Les tensioactifs cationiques sont peu utilisés car ils précipitent avec les tensioactifs anioniques. Ils sont plutôt utilisés comme désinfectants sélectifs comme les tensioactifs amphotères.

4. LA VALIDATION DU NETTOYAGE

4.1. Définition (15)

Valider un procédé de nettoyage, c'est démontrer de manière scientifique et documentée, que les différentes étapes de ce procédé permettent d'obtenir, dans les conditions pré-établies, une surface ne comportant pas de contamination résiduelle supérieure à une limite préalablement fixée, ceci de manière reproductible.

4.2. Pourquoi valider le nettoyage

La validation du nettoyage, outre le fait qu'elle soit une exigence réglementaire, est un élément nécessaire dans le cycle de production d'un médicament pour garantir sa qualité et assurer la sécurité du patient.

La validation du nettoyage a pour but de prouver que les procédures de nettoyage sont maîtrisées et qu'elles donnent les résultats attendus. La maîtrise des procédés de nettoyage va permettre de diminuer les risques de contamination et notamment le risque toxicologique provoqué par le passage d'un produit dans un autre.

4.3. Le contexte réglementaire

4.3.1. Historique et contexte américain (8, 15)

En 1962, dans les Good Manufacturing Practices (GMP), la Food and Drug Administration (FDA) évoque la validation en considérant que les locaux, les équipements, les procédés et les procédures utilisés pour la production et le contrôle doivent être conçus et évalués afin d'assurer la qualité des médicaments fabriqués.

En 1968, le guide des GMP 1968 indiquait simplement qu'« *on doit maintenir les équipements propres et rangés* ».

Le guide des GMP de 1978 ajoute à cela la notion de prévention : « *Le moyen le plus rationnel de maintenir un équipement propre est de prévenir les risques de contamination et d'altération des produits* ».

En 1993, la FDA rédige un guide à l'usage de ses inspecteurs spécifiquement axé sur la validation du nettoyage et décrivant les grandes lignes d'une démarche de validation.

Dans ce guide la FDA exige des industriels :

- qu'ils aient des Procédures Opératoires Standardisées (POS) ou procédures générales qui décrivent le procédé de nettoyage utilisé pour chaque équipement, entre deux lots de même produit ou de produits différents ;
- qu'ils aient des procédures générales qui décrivent comment le procédé sera validé, qui exécutera la validation et qui l'approuvera ;
- qu'ils conduisent la validation en accord avec les protocoles, et que les résultats soient documentés ;
- qu'ils rédigent un rapport de validation final, approuvé par les responsables, établissant si le procédé est validé ou non, en s'appuyant sur la comparaison des quantités de contaminant retrouvées avec une limite acceptable.

Malgré l'absence de référence spécifique dans les GMP US, la validation est bien une exigence.

4.3.2. Guide européen des Bonnes Pratiques de Fabrication (17)

Dans le guide européen des Bonnes Pratiques de Fabrication (B.P.F.), les modalités de nettoyage sont intégrées au processus de fabrication.

Les méthodes de nettoyage n'y sont pas précisées. Toutefois, il est mentionné que « *le matériel de lavage et de nettoyage doit être choisi et utilisé de façon à ne pas être une source de contamination* » : on a donc bien la notion de protection contre les contaminations éventuelles.

Au chapitre 3 : « *Locaux et matériel* » :

Il est précisé que « *leur plan, leur agencement, leur conception doivent tendre à minimiser les risques d'erreur et à permettre un nettoyage et un entretien efficace en vue d'éviter les*

contaminations, dont les contaminations croisées, le dépôt de poussières ou de saletés et, de façon générale, toute atteinte à la qualité des produits ».

A ce propos, les ateliers de conditionnement sont spécifiquement mentionnés : *« les locaux de conditionnement des médicaments doivent avoir été conçus à cette fin et organisés de façon à éviter les risques de confusion ou de contamination ».*

Dans ce même chapitre, à propos du matériel, nous pouvons lire que *« le matériel de fabrication doit être conçu de façon à permettre un nettoyage facile et minutieux. Il doit être nettoyé selon des procédures écrites détaillées et rangé dans un endroit propre et sec »* et que *« le matériel de production ne doit présenter aucun risque pour les produits. Les surfaces en contact avec les produits ne doivent pas réagir avec ceux-ci, ni les absorber, ni libérer d'impuretés, dans la mesure où la qualité pourrait en être affectée ».*

Au chapitre 5 *« Production »* :

Les points 5.18, 5.19, et 5.2, regroupés sous le titre *« prévention des contaminations croisées pendant la fabrication »* imposent de mettre en œuvre des procédures de nettoyage d'efficacité connue et de contrôler périodiquement cette efficacité.

Du fait de la diversité des produits, des sites de production et des équipements, aucune norme numérique en terme de propreté n'est mentionnée. Il convient donc à l'entreprise de se fixer ses propres normes en interne.

Ainsi, le nettoyage fait l'objet d'une réglementation européenne à part entière (annexes 15 et 18 des GMP européennes) et ce processus se doit d'être validé aussi bien dans les ateliers de fabrication que ceux de conditionnement.

4.4. Mise en œuvre de la validation

4.4.1. Définition de la politique d'entreprise (15)

Il s'agit de la définition des lignes directrices pour la mise en place de la validation du nettoyage. La politique d'entreprise s'attache à répondre aux deux questions suivantes :

Pourquoi et comment valider le nettoyage ?

Cette démarche s'appuie sur l'analyse des avantages et des inconvénients générés par la validation du nettoyage (cf. tableau I, page 26).

4.4.2. Détermination de la stratégie (13)

La stratégie de validation correspond à la définition d'une démarche pour la validation du nettoyage dans laquelle le nombre d'inconvénients est minimisé, les avantages et la fiabilité du raisonnement et des résultats augmentés.

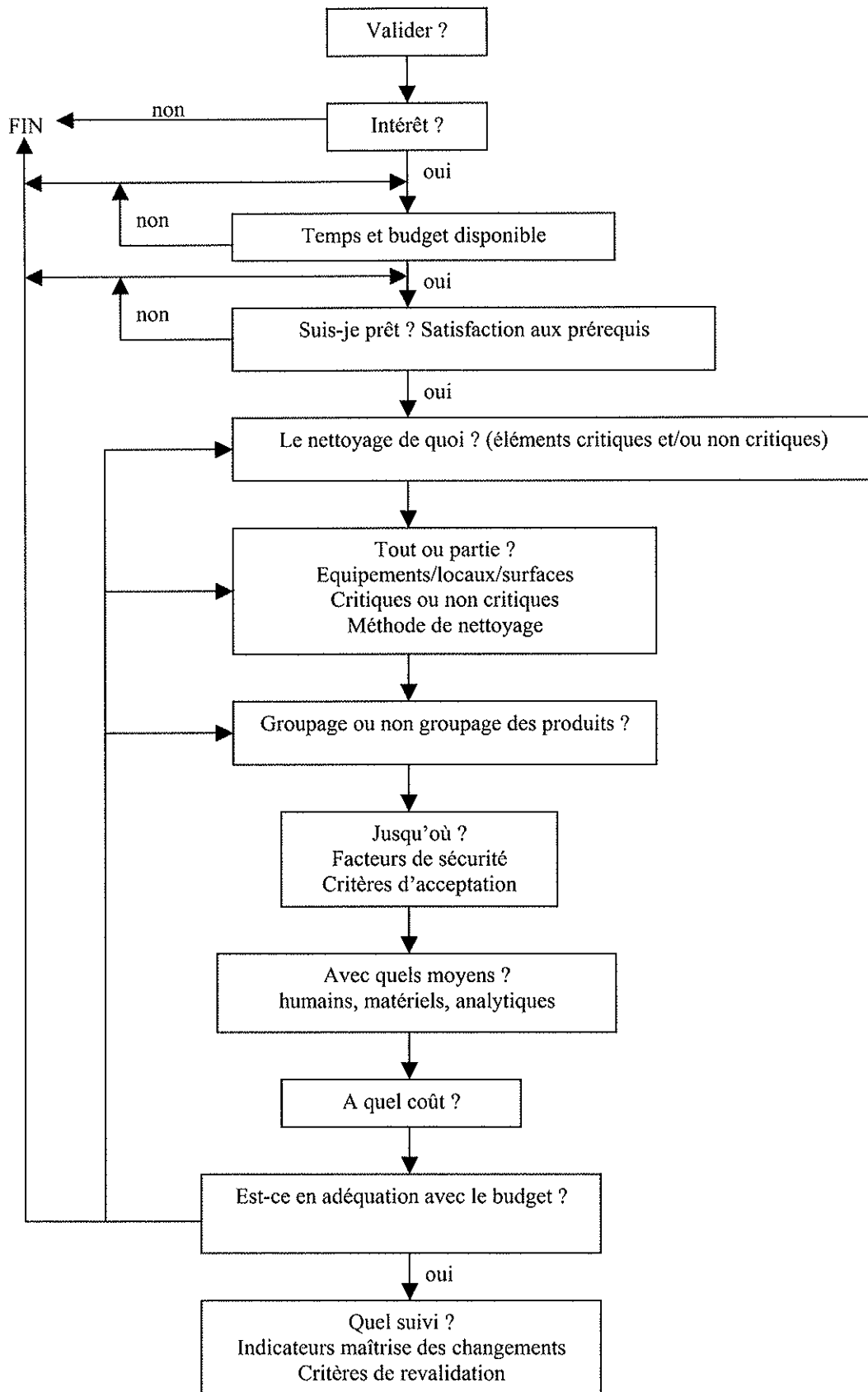
La démarche pour créer sa propre stratégie peut se résumer par le logigramme présenté à la page 27.

Il est indispensable de pouvoir dégager suffisamment de temps (opérateurs et encadrement) et de moyens matériels pour mettre en place un programme de validation. Il est également nécessaire de nommer un responsable de projet pour coordonner la mise en place et le suivi des programmes de validation.

Avantages	Inconvénients
Remise en cause du système	
<i>Milieu</i>	
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Optimisation des flux <input type="checkbox"/> Meilleure maîtrise de l'environnement du procédé 	
<i>Matériel et main d'œuvre</i>	
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Optimisation des procédés de nettoyage (nouveaux matériels et produits) 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Immobilisation du matériel de production et d'analyse (diminution de la productivité)
<i>Main d'œuvre</i>	
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Valorisation du nettoyage en tant qu'activité pharmaceutique <input type="checkbox"/> Valorisation de l'équipe (expertise) <input type="checkbox"/> Freins aux changements anarchiques dans les procédés 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Moyens humains nécessaires importants Pour les différents acteurs, nécessité de dégager du temps <input type="checkbox"/> Nécessité d'un chef de projet <input type="checkbox"/> Possibilité d'avoir recours à des « forces extérieures » : stagiaire, CDD, consultant <input type="checkbox"/> Moyens humains nécessaire pour le suivi
<i>Méthodes</i>	
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Conformité aux exigences réglementaires nationales, européennes et internationales <input type="checkbox"/> Meilleure maîtrise de son procédé de production par la connaissance et l'identification des points critiques et par la suppression éventuelle de certains d'entre eux <input type="checkbox"/> Démonstration de l'efficacité et de la répétabilité des procédés de nettoyage <input type="checkbox"/> Optimisation des plannings de production (travail par campagne) <input type="checkbox"/> Gain de temps pour la recherche des causes en cas de non-conformité sur un produit fabriqué ultérieurement <input type="checkbox"/> Mise en place d'une méthodologie réutilisable pour le futur 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Bouleversement des plannings de production (aménagements et désorganisations momentanées)
<i>« Monnaie »</i>	
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Réduction des coûts de contrôles, de leur complexité et des temps d'analyse <input type="checkbox"/> Optimisation et maîtrise du coût des nettoyages 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Possibles investissement liés à : <ul style="list-style-type: none"> - remise en cause du matériel de nettoyage, - remise en cause du matériel de production, - matériel dédié, nouveau matériel d'analyse, - modification des locaux, - locaux dédiés, nouveaux locaux. <input type="checkbox"/> Diminution momentanée de la productivité

Tableau I : Avantages et inconvénients de la validation du nettoyage (13)

Figure 3 : Arbre décisionnel pour le choix de la méthodologie de la validation du nettoyage



4.4.3 Détermination de la méthodologie

La méthodologie définit les étapes à mettre en œuvre au niveau du site pour effectuer la validation et conduit à l'élaboration du protocole de validation. Il s'agit de la mise en place proprement dite du programme de validation.

La première étape de mise en place d'un programme de validation du nettoyage consiste à en définir les points clés (20), c'est à dire :

- les produits ;
- les équipements ;
- les procédés de fabrication ;
- les procédures de nettoyage ;
- les limites d'acceptation ;
- les méthodes de prélèvement ;
- les méthodes d'analyse ;
- le personnel et les responsabilités.

La seconde étape comprend la description de la méthode de validation du nettoyage, la mise en place du protocole et sa mise en œuvre après analyse des points critiques, après quoi les résultats seront rassemblés dans un rapport de validation.

4.4.4. Conditions pré requises à la validation du nettoyage (15, 19, 23)

4.4.4.1. Objectifs

Avant d'envisager toute validation, il est nécessaire de définir des niveaux de propreté à atteindre en fonction du niveau de risque pour le produit, pour les opérateurs et pour l'environnement.

Ils doivent être à la fois exigeants et réalistes tout en respectant les réglementations et recommandations des autorités compétentes.

Cela permet de déterminer les moyens les mieux adaptés à la mise en œuvre de la validation.

4.4.4.2. Configuration et utilisation des locaux et des équipements

La configuration des locaux et équipements doit être décrite. Les points critiques et les surfaces difficilement accessibles doivent être précisés. Tous ces aspects doivent être documentés : schémas et repérage des locaux et des équipements, des flux, des canalisations et identification des points critiques (joints, rebords,...).

4.4.4.3. Qualification des locaux et des équipements

Avant de commencer la validation du nettoyage, il faut s'assurer que les fonctionnalités des équipements intervenant lors du nettoyage sont qualifiées et que les caractéristiques environnementales des locaux sont spécifiées et maîtrisées (par exemple contamination particulière, biocontamination, température, hygrométrie, pression,...).

4.4.4.4. Qualification du personnel

Les opérateurs chargés de la validation doivent avoir un niveau de formation théorique et pratique adapté à l'environnement du lieu de travail.

4.4.4.5. Qualification du matériel et des agents de nettoyage

Qualifier le matériel de nettoyage, c'est prouver que ce matériel est adapté au mode de nettoyage, n'altère pas la surface à nettoyer, ne génère ni ne transfère de contaminants.

Concernant les agents de nettoyage, ils doivent être achetés auprès de fournisseurs sélectionnés par l'entreprise afin de garantir la constance de la qualité.

Ces derniers doivent fournir pour chaque produit, en fonction de son utilisation :

- la composition quantitative, et si possible un certificat d'analyse ;
- les données de sécurité ;
- le mode d'emploi ;
- une méthode de dosage ;
- une méthode de recherche de traces.

4.4.4.6. Procédures de nettoyage optimisées

Pour mettre en œuvre la validation d'un procédé de nettoyage, des modes opératoires doivent être rédigés au préalable. Ceux-ci ont pour fonction de donner des informations détaillées et séquentielles nécessaires à la réalisation du nettoyage.

En d'autres termes, ces procédures sont indispensables pour :

- assurer la fiabilité des résultats ;
- éviter les dérives dues à la routine ;
- éviter les risques inhérents à la transmission orale des informations (oubli d'étapes, mauvaise compréhension) ;
- garantir la transparence des opérations ;
- servir de référence de travail, garantissant la qualité, à l'intention notamment des nouveaux arrivants.

4.5. Méthodologie générale de la validation du nettoyage

La validation du nettoyage des procédés de fabrication au sein d'un site de production pharmaceutique multiproduits demande une approche méthodique. La diversité des produits fabriqués, des procédés mis en œuvre, des matériels utilisés et des procédures appliquées entraînent des validations complexes, longues et coûteuses.

Selon la politique de l'entreprise, la validation de l'ensemble des produits et des équipements sera réalisée ou au contraire des méthodologies de groupage seront envisagées.

4.5.1. Méthode de groupage (2)

4.5.1.1. Principe

La méthode de groupage est basée sur la détermination d'un ou plusieurs « pire(s) des cas » ou « worst case(s) ». La connaissance parfaite des produits et des équipements va permettre de définir, le ou les « worst case(s) », qui seront retenus pour la validation.

Cette méthodologie consiste en la constitution de matrices réalisées à l'aide des informations recueillies lors de l'état des lieux.

4.5.1.2. Etat des lieux

Les paramètres à répertorier pour la mise en place d'une méthode de groupage sont les suivants :

- la liste des produits fabriqués en spécifiant leurs formes galéniques, leurs compositions quantitatives et qualitatives ainsi que leurs tailles de lot ;
- les concentrations des principes actifs et/ou des composants majoritaires entrant dans la composition des différentes spécialités ;
- les solubilités des principes actifs et/ou des composants majoritaires ;
- l'activité (dose thérapeutique minimale ou maximale journalière) ou la toxicité (Dose Létale 50) des principes actifs et/ou des composants majoritaires ;
- la nettoyabilité des produits, paramètre retenu pour évaluer et coter la difficulté à éliminer un produit sur une surface donnée ;

- la liste des équipements utilisés lors des procédés de fabrication en précisant leur surface et la nature des matériaux ;
- la liste des agents nettoyants et des solvants de nettoyage utilisés en précisant leur origine.

Dans le cas d'une validation prospective, il est possible de s'appuyer sur des données transmises par les services de recherche et développement galénique, lors de la transposition industrielle des procédés de fabrication.

Dans le cas d'une validation rétrospective, il est nécessaire de disposer d'un historique des difficultés rencontrées lors des nettoyages (enquête auprès des opérateurs, données issues de la recherche, etc.)

4.5.1.3. Méthodologie

Etape 1 : Relier les équipements et les produits

Pour une même procédure de nettoyage, on établit une matrice reliant les équipements aux produits fabriqués :

Produits et formes galéniques	Liste des équipements			
	Equip. 1	Equip. 2	Equip. 3	Equip. 4
Produit A	X			X
Produit B		X	X	X
Produit C	X		X	
Produit D		X		X
Produit E	X	X	X	

Tableau II : Rattachement des produits et des équipements de fabrication

Etape 2 : Sélection du ou des contaminants

Le choix du ou des contaminant(s) à rechercher dépend de la nature, du niveau de risque des produits fabriqués et de leur environnement.(15)

Dans le cadre de la validation du nettoyage, le contaminant chimique recherché est généralement le principe actif. Dans le cas des formes galéniques comportant plusieurs principes actifs, le traceur retenu peut être le composant le plus actif, le plus concentré ou le moins soluble. (2)

Le choix du traceur peut parfois s'orienter vers un autre composant tel qu'un excipient, un conservateur (par exemple pour les spécialités ne comportant pas de principe actif).

De plus, lorsque la procédure de nettoyage introduit l'utilisation d'un détergent, celui-ci sera également à prendre en compte.

Ces contaminants sont ensuite regroupés selon des critères (toxicologiques, de solubilité, de nettoyabilité, de concentration).

	Nettoyabilité
Produit A	4
Produit B	2
Produit C	1
Produit D	3
Produit E	3

Echelle de nettoyabilité : 1 : très difficile à éliminer ;
2 : difficile à éliminer ; 3 : facile à éliminer ; 4 : très facile à éliminer.

Tableau III : Classement des produits selon le critère nettoyabilité

En fonction de ces différents critères, il est possible de déterminer le ou les produit(s), le ou les plus toxiques, le ou les moins solubles, le ou les moins nettoyables. Ces produits sont considérés comme « worst cases » ou pires des cas, et la validation du nettoyage de ces produits valide l'ensemble des produits du groupe.

Afin de réduire encore le nombre de produits, une approche matricielle peut être envisagée. Elle consiste à ne sélectionner qu'un seul « worst case » en considérant pour chaque produit, les critères défavorables.

Les contaminants biologiques sont également recherchés. Cette contamination est appréciée selon les cas par le dénombrement des germes totaux et/ou spécifiques.

Etape 3 : Sélection des équipements (11,18)

Le nombre important d'équipements rencontrés au sein des sites de production rend difficile la validation du nettoyage de l'ensemble de ces équipements.

Il est néanmoins possible de regrouper les équipements par :

- fonction ;
- forme ;
- matériau ;
- degré d'usure ;
- âge ou par type d'utilisation.

Dans le cas d'équipements identiques de tailles différentes (exemples : conteneurs, flexibles), la validation des extrêmes valide l'ensemble de la famille des produits.

4.5.1.4. Avantages et inconvénients des méthodes de groupage

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none">▪ Réduire le nombre d'essais à réaliser lors des validations,▪ Mieux connaître les équipements et les produits,▪ Uniformiser les procédés de nettoyage,▪ Diminuer le nombre de méthodes analytiques à valider,▪ Possibilité de ne pas revalider la totalité d'un procédé de nettoyage lorsqu'un nouveau produit est introduit sur le site, si celui-ci ne correspond pas à un des «pires des cas »,▪ Gain de temps et d'argent.	<ul style="list-style-type: none">▪ Faire du surnettoyage,▪ Difficulté à faire du groupage au niveau des équipements.

Tableau IV : Avantages et inconvénients des méthodes de groupage

4.5.2. Détermination du critère d'acceptation chimique (9, 11, 15)

4.5.2.1. Principe

Le choix du critère d'acceptation est basé sur la sécurité du patient ; il doit être inférieur à la fraction de la dose pouvant entraîner un effet indésirable.

Le critère d'acceptation retenu s'applique au train d'équipement, c'est à dire à l'ensemble des surfaces en contact avec le produit précédant et le produit suivant.

Cependant lorsque les équipements sont utilisés de façon plus aléatoire, il peut être défini un critère d'acceptation pour chaque équipement.

La limite d'acceptation correspond à la quantité maximale de contaminant que l'on s'autorise à retrouver dans le produit suivant.

Il convient de prendre le critère d'acceptation le plus rigoureux et le plus adéquat parmi ceux généralement usités proposés ci-dessous :

- ❑ pas plus de 0,1% de la dose thérapeutique normale de tout produit ne peut être présente dans la dose quotidienne maximale du produit suivant (critère du millième) ;
- ❑ pas plus de 10 ppm de tout produit ne peut être présent dans un autre produit ;
- ❑ critère basé sur la toxicité du contaminant ;
- ❑ critère basé sur les données pharmacologiques ;
- ❑ aucune quantité de résidu ne doit être visible sur l'équipement une fois que le nettoyage a été effectué. Des études par ajouts dosés doivent déterminer la concentration à laquelle la plupart des ingrédients actifs sont visibles.

4.5.2.2. Critère du millième (19)

Cette limite signifie que pas plus du $1/1000^{\text{ème}}$ de la dose thérapeutique du produit A ne doit être présente dans la dose quotidienne maximale du produit B.

Le risque calculé par ce critère est celui de concentrer une dose pharmacologiquement active de A dans la prise thérapeutique journalière de B.

Afin de se situer dans le « pire des cas », la plus petite dose pharmacologiquement active de A est divisée par 1000 (facteur de sécurité) et la dose journalière du produit B correspond à la dose maximale.

Ce risque est « dilué » dans la taille du lot B : plus le lot B est grand, moins le risque de réunir la Dose Journalière Thérapeutique (DJT) de A est important.

Enfin, plus la surface des équipements communs aux deux produits est grande, plus le risque de contamination croisée est important.

Selon le critère du millième, la quantité de produit A en mg sur une surface de 1 cm^2 ne doit pas dépasser :

$$\frac{0,001 \times \text{DJT de A (mg)} \times \text{Plus petite taille du lot B (mg)}}{\text{Dose maximale journalière de B (mg)} \times \text{Surface commune aux deux produits (cm}^2\text{)}}$$

4.5.2.3. Le critère des 10 ppm

Il signifie que pas plus de 10 ppm du produit A ne doit être présent dans le produit B c'est à dire pas plus de 10 mg du produit A dans 1 kg de produit B.

Ce critère a pour origine l'industrie alimentaire où il est utilisé comme limite pour des substances retrouvées dans les tissus animaux et farines animales susceptibles de passer dans la nourriture destinée à l'homme.

La quantité de produit A en mg sur une surface de 1 cm² ne doit pas dépasser :

$$\frac{10 \times \text{Plus petite taille du lot B (kg)}}{\text{Surface commune aux deux produits (cm}^2\text{)}}$$

4.5.2.4. Critère basé sur la toxicité du contaminant

Lorsque le contaminant recherché n'est pas un principe actif ou s'il s'agit d'un principe actif dont les données pharmacologiques ne sont pas connues (principe actif en Recherche et Développement), le calcul du critère d'acceptation est basé sur la toxicité.

On utilise alors les données issues des essais sur les animaux : la Dose Létale 50 (DL 50), dose qui tue 50 % des animaux soumis à l'expérimentation.

On utilise le concept de la Dose Journalière Acceptable (DJA) ou en anglais ADI et de Niveau Sans Effet Observé (NSEO) en anglais NOEL.

NOEL = No Observable Effect Level

$$\text{NOEL} = \text{DL } 50 \times 5.10^{-4} / \text{kg}$$

(le facteur 5.10^{-4} est une constante basée sur un grand nombre de résultats publiés.)

La dose journalière acceptable est le niveau sans effet observable, divisé par le facteur de sécurité F qui est fonction de la voie d'administration.

$$\text{ADI (mg/j)} = \text{NOEL} / \text{Facteur de sécurité}$$

ADI = Acceptable Daily Intake = Prise quotidienne acceptable.

C'est la quantité de principe actif en mg/jour qui n'entraîne aucun effet thérapeutique ou toxique.

Le facteur de sécurité retrouvé dans la littérature dépend de la voie d'administration.

Selon ce critère, la quantité de produit A en mg sur une surface de 1 cm² ne doit pas dépasser :

$$\frac{\text{ADI (mg)}}{\text{Surface en commune aux deux produits (cm}^2\text{)}} \times \frac{\text{Plus petite taille de lot B (kg)}}{\text{Dose maximale journalière du produit B (mg/j)}}$$

4.5.2.5. Critère basé sur les données pharmacologiques

Selon ce critère, la quantité de produit A en mg sur une surface de 1 cm² ne doit pas dépasser :

$$\frac{\text{Dose thérapeutique minimale du produit A (mg/j)}}{\text{Facteur de sécurité}} \times \frac{\text{Plus petite taille du lot B (mg)}}{\text{Dose maximale journalière du produit B (mg /j)}} \times \frac{\text{Surface commune aux deux produits (cm}^2\text{)}}{\text{Surface commune}}$$

4.5.2.6. Critère de visuel (22)

Le matériel ne doit montrer aucun résidu sur les surfaces en contact avec les produits.

Les médicaments, agents de nettoyage et autres sels, sur une surface en acier inoxydable de 225 cm² peuvent être visibles jusqu'à une concentration de 1,0 µg/cm², à l'aide d'une source lumineuse. (10)

D'autres études ont montré que les résidus médicamenteux pouvaient l'être jusqu'à 4,0 µg /cm² sur une surface de 25 cm².

Il apparaît que les résidus sont plus facilement détectables sur des surfaces plus grandes.

Pour les équipements utilisés pour plusieurs produits, cette détection visuelle ne constitue bien sûr qu'un critère minimal : si le contrôle visuel ne révèle pas de traces de produit, des prélèvements pour analyse chimique et microbiologique doivent cependant être effectués.

4.5.3. Les prélèvements

4.5.3.1 Le contrôle visuel

L'objectif attendu d'une méthode de nettoyage est au minimum l'obtention d'une surface générale ou d'un équipement visuellement propre, c'est à dire exempt de traces ou de particules repérables à l'œil nu grâce à un éclairage suffisant. (15)

Aucun prélèvement ne sera entrepris si ce résultat n'est pas atteint.

Un contrôle visuel doit donc être réalisé avant tout prélèvement :

- si des traces de produits sont visibles, le prélèvement n'est pas effectué. Il faut alors rechercher l'origine de cette présence ;
- si des traces de détergent (mousse) sont visibles, le rinçage doit être complété, et ce, jusqu'à disparition de toute trace visible ;
- si le contrôle visuel ne révèle aucune trace de détergent, on peut passer à l'étape suivante : le prélèvement.

4.5.3.2. Les méthodes de prélèvement

Il existe trois principaux types de prélèvement :

- prélèvement direct ;
- prélèvement indirect par rinçage ;
- prélèvement par placebo.

Prélèvement direct

Ce type de prélèvement est réalisé sur une surface d'équipement dont la taille et la nature sont bien définies.

Le prélèvement s'effectue par contact, essuyage ou écouvillonnage de la surface, à sec ou en imprégnation avec un ou plusieurs solvants.

Prélèvement indirect par rinçage

Cette méthode consiste à prélever soit le dernier liquide de rinçage, soit à réaliser un rinçage supplémentaire.

Dans le cas du rinçage supplémentaire, le prélèvement s'effectue par aspersion, trempage, circulation, avec ou sans agitation, avec ou sans modification de la température dans un volume de solvant bien défini.

Prélèvement par placebo

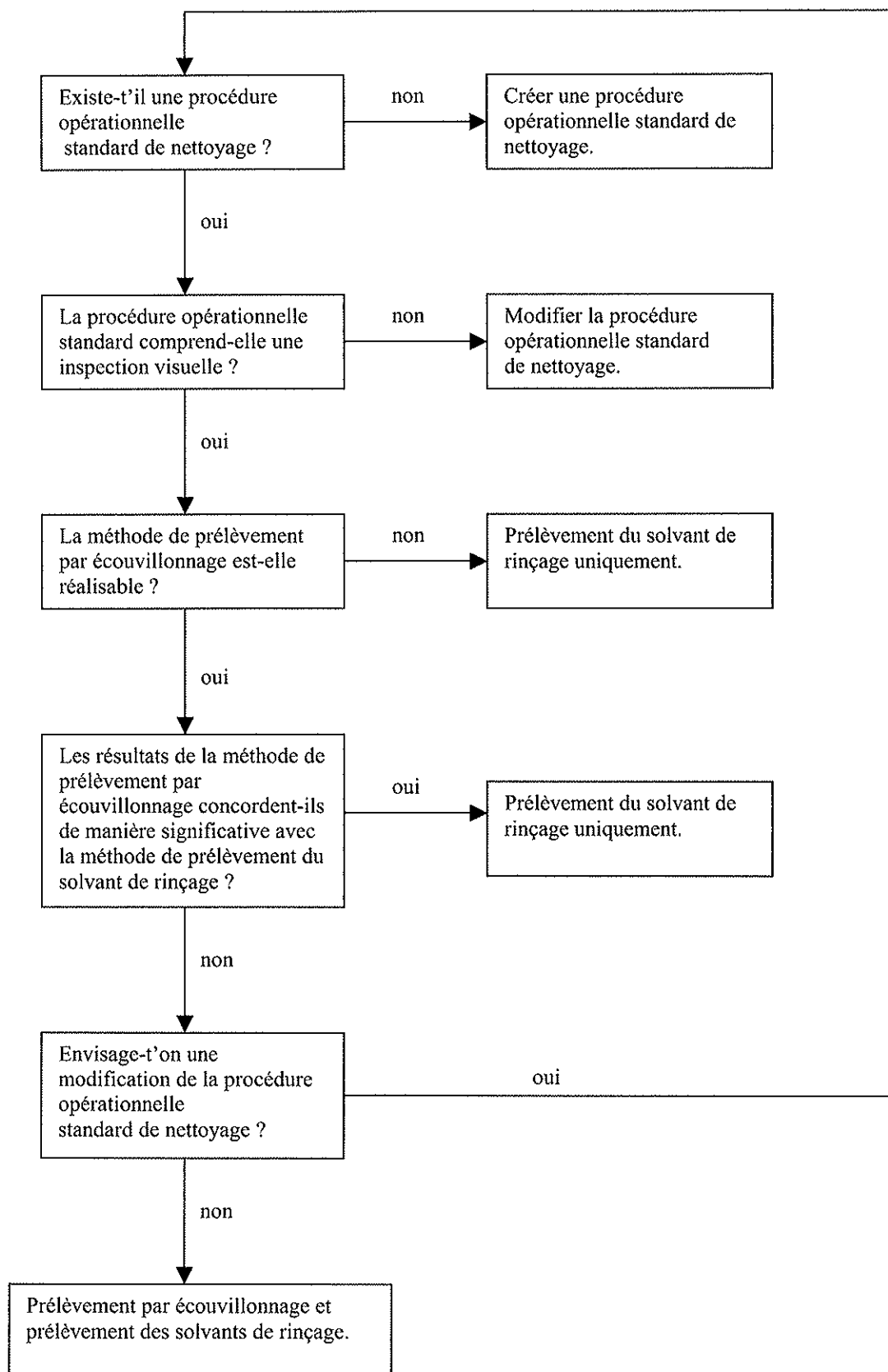
Cette méthode consiste à effectuer des prélèvements sur placebo (lot sans principe actif) préparé dans les mêmes conditions et avec les mêmes équipements, nettoyés selon la méthode à valider.

4.5.3.3. Comparaison des différentes méthodes de prélèvement

Avantages	Inconvénients
Prélèvement direct	
Adapté à des équipements variés. Cartographie de la contamination résiduelle ciblée. Méthode conforme aux recommandations FDA et GMP EU.	Nécessité de valider la méthode de prélèvement. Dépend du plan d'échantillonnage.
Prélèvement par rinçage	
Facile à mettre en œuvre. Intérêt dans le cas de surfaces inaccessibles. La FDA accepte cette méthode et recommande le rinçage supplémentaire au rinçage final.	Pas de cartographie de la contamination résiduelle. Modélisation du rendement de récupération difficile. Coût et sécurité dans le cas d'utilisation de solvant autre que l'eau.
Placebo	
Bonne simulation. Facile à réaliser.	Homogénéité de la récupération. Coût. Pas de cartographie de la contamination. Dilution importante. Non accepté par la FDA

Tableau V : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de prélèvement

Figure 4 : Arbre décisionnel pour le choix d'une méthode de prélèvement. (24)



4.5.4. Choix des méthodes analytiques (6, 7, 15, 23)

Le choix de la méthode analytique dépend des critères suivants :

- ❑ spécificité ;
- ❑ sensibilité ;
- ❑ limite de détection et de quantification ;
- ❑ linéarité (en particulier pour de faibles concentrations) ;
- ❑ exactitude (rendement) ;
- ❑ répétabilité/reproductibilité.

Ce choix dépend également :

- ❑ de la facilité de mise en œuvre ;
- ❑ du matériel disponible ;
- ❑ du coût ;
- ❑ de la méthode de prélèvement utilisée ;
- ❑ de l'expérience acquise.

Les critères « sensibilité » et « seuil de détection » vont dépendre du contaminant choisi. Il est recommandé que la limite de détection de la méthode choisie soit inférieure à 25 % du critère d'acceptation de l'échantillon et que la limite de quantification soit inférieure au critère d'acceptation de l'échantillon. (18)

Dans le cas contraire, un traitement spécifique de l'échantillon est à considérer et devra être validé également (extraction, concentration, ...).

La méthode retenue devra être validée dans la gamme de mesures correspondant aux résultats attendus.

Le nombre de méthodes utilisables pour les analyses physico-chimiques étant important, seules les méthodes les plus couramment utilisées lors des validations de nettoyage seront données ici.

Ces méthodes peuvent être classées en deux catégories :

- les méthodes simples et rapides ;
- les méthodes plus élaborées.

4.5.4.1. Les méthodes simples et rapides

➤ **L'analyse des caractères organoleptiques :**

- facilité d'analyse et résultats immédiats lors du prélèvement ;
- bon test qualitatif et faible coût ;
- méthode peu sensible et peu spécifique.

➤ **La mesure de la résistivité / conductivité ou la mesure du pH :**

- ces deux méthodes sont faciles à mettre en œuvre et applicables à la recherche de traces d'agent de nettoyage ;
- elles donnent des résultats immédiats sur le lieu de prélèvement ou au laboratoire ;
- faible spécificité.

➤ **Le dosage acide / base :**

- applicable à la recherche de traces d'agent de nettoyage ;
- quantification précise et seuil de détection satisfaisant ;
- faible spécificité.

➤ **La perte à la dessiccation :**

- faible coût ;
- faible spécificité et mise en œuvre difficile.

➤ **La spectrophotométrie UV-visible :**

- méthode sensible et lecture directe possible ;
- quantification peu spécifique.

4.5.4.2. Les méthodes élaborées

Toutes ces méthodes nécessitent l'intervention d'un personnel qualifié.

➤ **La chromatographie sur couche mince (CCM) :**

- méthode spécifique ;
- limite de quantification et seuil de détection insuffisants dans certains cas.

➤ **La chromatographie liquide haute performance (HPLC) :**

- facilité de mise en œuvre ;
- bonne spécificité et seuil de détection satisfaisant ;
- quantification précise et mise en évidence de produits de dégradation ;
- coût élevé.

➤ **La chromatographie en phase gazeuse (CPG) :**

- mêmes caractéristiques que l'HPLC, mais plus rarement employée ;
- utilisation intéressante pour les composés volatils.

➤ **Les méthodes biochimiques (kit de dosages enzymatiques) :**

- méthode très sensible et spécifique ;
- utilisation réduite à l'analyse de composés organiques.

➤ **La mesure du carbone organique total (COT) :**

- méthode très sensible (seuil de détection $< 0,5 \mu\text{g/mL}$) ;
- méthode rapide (entre 3 et 5 min par échantillon) ;
- applicable seulement aux produits organiques et hydrosolubles ;
- quantification non spécifique ;
- coût élevé de l'appareil.

Méthodes d'analyse	Applications			
	Principes actifs	Excipients	Agents de nettoyage	Application type
Caractères organoleptiques	X	X	X	Tous types
Résistivité / conductivité			X	Détergents
pH			X	Détergents
Dosage acide / base			X	Détergents
Perte à la dessiccation	X	X	X	Tous types
Spectrophotométrie	X	X		Tous types
CCM	X	X		Tous types
HPLC	X	X		Tous types
CPG	X	X	X	Composés volatiles
Biochimie	X	X		Tous types
COT	X	X	X	Protéines

Tableau VI : Application des différentes méthodes d'analyse (15)

4.5.5. Le support documentaire

4.5.5.1. Procédure de nettoyage (15)

Document qui a pour fonction de définir des règles de fonctionnement et d'organisation de nettoyage d'un secteur ou d'une entité en décrivant les objectifs, les responsabilités et l'enchaînement des tâches. Ce dernier point fait l'objet d'instructions écrites ou de modes opératoires suivant les cas.

Les procédures de nettoyage doivent correspondre strictement aux méthodes de nettoyage mises en œuvre et validées. (8)

La procédure de nettoyage contient les points suivants :

- ❑ objet : nettoyage des locaux, nettoyage des équipements ;
- ❑ niveau de propreté à atteindre : propreté visuelle, propreté chimique, propreté microbiologique, propreté particulaire ;
- ❑ décrire les équipements ou les surfaces à nettoyer ;
- ❑ citer le matériel de nettoyage ;
- ❑ citer les agents de nettoyage utilisés et les conditions d'emploi ;
- ❑ citer le personnel et sa qualification et les responsabilités de chacun ;
- ❑ citer les précautions particulières (sécurité, consignes d'exploitation) : il faudra déterminer et maîtriser le temps maximum et les conditions d'attente entre la fin d'une fabrication et l'opération de nettoyage ;
- ❑ décrire le mode opératoire proprement dit, préciser le type du nettoyage : manuel, semi-automatique, automatique ;
- ❑ durée de validité du nettoyage : après le nettoyage, les conditions dans lesquelles sont maintenus locaux, matériels et équipements doivent être précisées de façon à fixer la durée de validité du nettoyage ;
- ❑ préciser les contrôles, vérifications, enregistrements ;
- ❑ anomalies et actions correctives.

4.5.5.2. Feuille de suivi de nettoyage

La feuille de suivi de nettoyage résume les étapes de la procédure de nettoyage.

Ce document doit être complété par les opérateurs lors du nettoyage. Il permet une bonne traçabilité des opérations effectuées ainsi que la mise en évidence d'éventuels écarts entre la procédure et le nettoyage sur le terrain.

4.5.5.3. Plan directeur de validation

Ce document élaboré et mis à jour par le service Assurance Qualité, regroupant l'ensemble des opérations de validation de nettoyage menées et à mener sur le site industriel sur une période définie (une année le plus souvent).

4.5.5.4 Procédure générale de validation de nettoyage

Cette procédure décrit les modalités de mise en œuvre de la validation du nettoyage des équipements de production avec ou sans agent de nettoyage.

Elle s'applique, à tout équipement entrant en contact direct avec les matières premières des spécialités.

Au terme de la validation, la procédure de nettoyage doit être mise à jour ou confirmée.

4.5.5.5. Protocole de validation de nettoyage

Un protocole de validation doit être établi et approuvé préalablement à la validation du nettoyage.

Ce document est écrit en accord avec la procédure générale de validation : il décrit les conditions de mise en œuvre de la validation. (15)

Le protocole de validation doit contenir les éléments suivants :

- définition des objectifs à atteindre ;
- information sur le procédé de nettoyage et son environnement ;
- type d'équipement, nature des surfaces ;
- type des produits à nettoyer : nature, solubilité, réactivité, etc. ;
- référence des procédures de nettoyage ;

- ❑ description des tests à effectuer ;
- ❑ contrôles visuels de tous les points critiques identifiés : si tous les résultats des contrôles sont conformes, étape suivante possible : si des résultats sont non conformes, nettoyer et recontrôler avant de passer à l'étape suivante ;
- ❑ prélèvements : plan de prélèvement aussi précis que possible (schéma, photographie) ; conditions de prélèvement : le type et les références des supports de prélèvement, durée entre heure de prélèvement et heure d'analyse, nature du contenant ; méthode de prélèvement à détailler ;
- ❑ critère d'acceptation ;
- ❑ méthode de traitement et d'analyse des échantillons ;
- ❑ documents d'enregistrement de la validation.

4.5.5.6. Rapport de validation

A l'issue de la mise en œuvre du protocole de validation, le rapport est rédigé.

Celui-ci indique principalement les modifications des conditions opératoires s'il y en a eu, les résultats, les analyses et les conclusions.

5. LE DOSAGE DU CARBONE ORGANIQUE TOTAL (COT)

5.1. Définitions (1)

Carbone Total (CT) ou Total Carbon (TC)

C'est la « quantité de carbone contenue dans l'eau sous forme de carbone organique, inorganique et élémentaire ».

Carbone Inorganique Total (CIT) ou Total Inorganic Carbon (TIC)

C'est la « somme du carbone présent dans l'eau sous forme de carbone élémentaire, de dioxyde de carbone total, de monoxyde de carbone, de cyanures, de cyanates et de thiocyanates. La plupart des instruments de mesure du carbone organique total ne détectent comme carbone inorganique total que le dioxyde de carbone provenant des hydrogénates et des carbonates ».

Carbone Organique Total (COT) ou Total Organic Carbon (TOC)

C'est la « somme du carbone organique contenu dans les matières dissoutes et en suspension dans l'eau. Les cyanates, le carbone élémentaire et les thiocyanates sont également mesurés ».

Carbone Organique Volatil ou Purgeable (COV ou COP) ou Purgeable Organic Carbon (POC)

Lorsque l'appareil de mesure utilise la méthode de mesure directe du COT, un gaz de purge entraîne le dioxyde de carbone formé après acidification.

Une partie du carbone organique total, le carbone organique volatil (solvants, hydrocarbures), peut être entraînée.

C'est pour cela qu'il est aussi appelé carbone organique purgeable.

Carbone Organique non volatil ou Non Purgeable (CONV ou CONP) ou Non Purgeable Organic Carbon (NPOC)

Par opposition au carbone organique purgeable, le carbone organique non volatil est ce qui reste dans l'échantillon après passage du gaz vecteur.

Dans le cas de l'eau purifiée, le carbone organique purgeable est négligeable par rapport au carbone non purgeable et alors le carbone organique total est égal au carbone organique non purgeable.

5.2. Aspect réglementaire (8)

Depuis la publication, en 1993, du guide de la FDA à l'usage des inspecteurs, plusieurs études ont montré l'efficacité du COT dans la mesure des résidus de contaminant.

La FDA considère aujourd'hui le COT ou le CT comme une méthode acceptable pour la détection des contaminants, non seulement en routine mais également pour la validation du nettoyage.

Certaines conditions sont cependant nécessaires pour l'utilisation du COT :

- ❑ le contaminant doit être constitué majoritairement de composés organiques oxydables par l'analyseur de COT ;
- ❑ la totalité du carbone détecté doit être attribuée au contaminant recherché ;
- ❑ des études de recouvrement doivent être réalisées ;
- ❑ si les prélèvements sont stockés avant d'être analysés, l'impact du temps de stockage doit être mesuré.

5.3. Utilisation du COT pour valider le nettoyage (22)

Les méthodes non spécifiques sont surtout utilisées, à ce jour, pour des contrôles en routine, par exemple pour la surveillance de l'efficacité du nettoyage une fois qu'il est validé.

Pour ce faire, la corrélation entre les résultats des méthodes spécifiques utilisées pour la validation de nettoyage avec ceux des méthodes non spécifiques susceptibles d'être utilisées en routine doit être établie au préalable.

Le dosage du Carbone Organique Total, bien qu'étant une méthode non spécifique, va voir son usage se développer, étant depuis peu accepté par la FDA dans le cadre de la validation de nettoyage des équipements de production.

L'avantage de cette méthode non spécifique est de détecter une grande variété de résidus tandis qu'une méthode spécifique ne détecte que le contaminant recherché et laisse ainsi passer les autres contaminants.

Par ailleurs, elle est facile et rapide à mettre en œuvre, peu coûteuse et d'une grande sensibilité.

5.3.1. Les sources de carbone organique.

Le carbone organique provient des contaminants chimiques (principes actifs, excipients, détergents), particuliers mais aussi microbiologiques.

5.3.2. Avantages du COT dans la validation du nettoyage

□ **Faible coût**

Un appareil de mesure du COT représente un certain investissement, mais la plupart du temps, le laboratoire en possède déjà un pour le contrôle de l'eau. A l'utilisation, le COT est une méthode peu coûteuse.

□ **Méthode très sensible (seuil de détection < 0,5 ppm)**

Cette méthode est particulièrement adaptée à la détection de traces de produit.

□ **Méthode non spécifique**

Cette caractéristique est un avantage en validation de nettoyage.

En effet, on attend du nettoyage qu'il élimine non seulement le(s) principe(s) actif(s), mais aussi les excipients et des agents de nettoyage. En utilisant une méthode spécifique, dosant le plus souvent le principe actif, on peut passer à côté d'éventuels autres contaminants.

De plus, lors de l'utilisation de détergent, celui-ci peut réagir avec le principe actif, en donnant des produits de dégradation qui ne peuvent pas être détectés par des méthodes spécifiques.

□ **Développement rapide de la méthode**

La mise au point d'une méthode COT est relativement rapide car les paramètres à définir sont peu nombreux (débit d'acide et d'oxydant).

La même méthode est utilisée pour tous les contaminants à rechercher. Contrairement aux méthodes spécifiques, type HPLC, la même procédure peut être utilisée pour tous les produits.

□ **Temps d'analyse court**

Le temps d'analyse d'un échantillon est de quelques minutes, temps nécessaire à l'oxydation des composés organiques. L'appareil effectue cinq mesures consécutives sur chaque échantillon.

D'autre part, la préparation de l'échantillon est rapide (une étape de filtration peut être éventuellement envisagée).

□ **Possibilité d'effectuer des mesures en ligne**

Le COTmètre peut être installé en ligne et procurer des résultats très rapidement pour les contrôles de routine du nettoyage.

□ **Intérêt particulier dans le domaine de la biopharmacie**

Avec les produits biopharmaceutiques, obtenus par la technique de l'ADN recombinant, la validation du nettoyage est particulièrement difficile.

En effet, le spectre des contaminants potentiels est très large : cela inclut quantité de composants cellulaires, comme des protéines, des acides nucléiques, des sucres, des endotoxines, aussi bien que les détergents en plus de la substance active elle-même.

Le COT va permettre de détecter toutes ces substances ainsi que les protéines dénaturées, non détectées avec les méthodes biochimiques (ELISA, électrophorèse,...).

5.3.3. Inconvénients du COT dans la validation du nettoyage

□ **Réduire la contamination en carbone**

Lors de la préparation des échantillons, il est important de veiller à réduire l'apport en carbone, par :

- l'utilisation d'une verrerie spécifique ;
- le remplissage aseptique des flacons afin de réduire la contamination microbienne, source de carbone organique.

□ **Prévoir une méthode spécifique**

Dans le cas de résultats supérieurs au critère d'acceptation fixé, une méthode spécifique devra être mise en œuvre.

□ **Le contaminant recherché doit être soluble dans l'eau**

5.4. Principe du dosage du Carbone Organique Total (COT)

La mesure du COT est basée sur l'oxydation des composés organiques en dioxyde de carbone, celui-ci étant dosé par conductimétrie.

Outre le carbone organique, les échantillons d'eau peuvent contenir du dioxyde de carbone ainsi que des carbonates et bicarbonates (carbone inorganique).

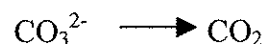
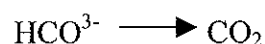
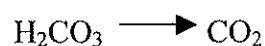
Pour mesurer le carbone organique, il convient :

- soit d'éliminer le carbone inorganique total puis de doser le carbone organique total (mesure directe du COT) ;
- soit de doser le carbone inorganique total puis le carbone total, la teneur en carbone organique est alors calculée en soustrayant le carbone inorganique total au carbone total (mesure indirecte du COT).

Cette deuxième méthode convient plus particulièrement au dosage des eaux dont la teneur en CIT est inférieure à la teneur en COT.

5.4.1. Méthode directe de mesure du COT

1) Les composés inorganiques, présents sous forme d'acide carbonique, d'ions hydrogénocarbonates (ou bicarbonates) et d'ions carbonates, sont mis en contact avec de l'acide phosphorique, qui transforme ces composés en dioxyde de carbone suivant la réaction :



En fait, les ions carbonates et hydrogénocarbonates sont transformés en acide carbonique H_2CO_3 , qui se déshydrate immédiatement, pour donner de l'eau et du dioxyde de carbone.

2) Le CO_2 formé à partir des composés inorganiques est éliminé en purgeant l'échantillon acidifié avec un gaz exempt de CO_2 et de composés organiques.

3) Certains composés organiques volatils sont également éliminés par la purge à la température ambiante. Il s'agit du Carbone Organique Volatil (COV) ou carbone Organique Purgeable (COP). Ces composés peuvent être éventuellement récupérés et oxydés en CO₂, qui sera dosé pour quantifier le Carbone Organique Purgeable.

4) Un procédé d'oxydation (procédé chimique, rayonnement UV ou combustion) permet d'oxyder les matières premières non volatiles en CO₂.

5) Le CO₂ formé à partir des composés organiques est dosé : on mesure le Carbone Organique Non Purgeable (CONP).

Cette méthode est aussi appelée méthode du Carbone Organique Non Purgeable (CONP), puisque c'est le CONP que l'on mesure en réalité.

Si l'appareil quantifie le Carbone Organique Purgeable, la quantité de COT de l'échantillon peut être calculée de la façon suivante :

$$\text{COT} = \text{CONP} + \text{COP}$$

Cependant, on rappelle que dans les eaux à usage pharmaceutique, les quantités de COP peuvent être considérées comme négligeables. C'est pourquoi, on peut mesurer le CONP et considérer qu'il est égal au COT.

5.4.2. Méthode indirecte de mesure du COT

1) La première étape d'acidification de l'échantillon est la même que pour la méthode directe.

2) Le CO₂ formé à partir des composés inorganiques est mesuré : on mesure le Carbone Inorganique Total CIT.

3) Un procédé d'oxydation (procédé chimique, rayonnement UV, combustion) permet d'oxyder à la fois les matières organiques et les matières inorganiques en CO₂.

4) Le CO₂ formé à partir des composés organiques et inorganiques est dosé : on mesure le carbone total.

5) La quantité de Carbone Organique Total est calculée en soustrayant la quantité de Carbone Inorganique Total à la quantité de Carbone Total : $\text{COT} = \text{CT} - \text{CIT}$

5.5. Détection du dioxyde de carbone par mesure de la conductivité

5.5.1. Définition de la conductivité

La conductivité d'une eau est la capacité de ce fluide à laisser passer un courant électrique (flux d'électrons) entre deux électrodes. Ce flux d'électrons est d'autant plus fort que la teneur de l'eau en sels dissous est importante, entraînant une conductivité élevée.

A l'inverse, les eaux très déminéralisées n'auront que peu d'aptitude au passage du courant, conduisant à une faible conductivité.

La conductivité d'une eau étant fonction du degré de dissociation des molécules dissoutes, elle augmente avec la température. Le conductimètre doit donc faire une mesure de la température de l'eau pour ramener la conductivité mesurée à la valeur correspondant à une température de référence donnée.

La conductivité est mesurée par la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm^2 de surface et espacées l'une de l'autre de 1 cm.

La conductivité est exprimée en Siemens avec pour sous-multiple le milli-Siemens par cm et le micro-Siemens par cm ou μScm^{-1} . Cette dernière unité est la plus usitée en traitement de l'eau.

La résistivité est l'inverse de la conductivité et elle s'exprime en ohm.cm ($\Omega\text{.cm}$).

Le calcul de la résistivité est établi par la relation suivante :

$$\text{Résistivité } (\Omega\text{.cm}) = 10^6 / \text{conductivité } (\mu\text{S.cm}^{-1})$$

Quand la teneur en éléments ionisés diminue, la résistivité diminue et la conductivité augmente.

5.5.2. Principe de mesure de la conductivité

Cette mesure est réalisée avec un appareil appelé conductimètre.

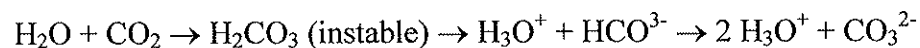
Celui-ci mesure l'intensité du courant électrique recueilli aux bornes des deux électrodes, de dimension et de géométrie connues, plongées dans l'eau à analyser.

Ces deux électrodes sont soumises à une différence de potentiel alternative dont la fréquence sera d'autant plus élevée que la teneur en éléments ionisés sera importante. Il faudra donc disposer d'un conductimètre adapté à la teneur moyenne d'éléments ionisés dans l'eau à tester.

5.5.2.1. Conductivité directe

La mesure de la conductivité est effectuée immédiatement avant et après l'oxydation des composés organiques. La différence de conductivité entre les deux mesures est attribuée au COT de l'échantillon.

Après oxydation, le CO₂ forme dans un premier temps de l'acide carbonique H₂CO₃, qui se dissocie en ions hydronium H₃O⁺, hydrogénocarbonates HCO³⁻ et carbonates CO₃²⁻.



Les ions ainsi formés induisent une augmentation de la conductivité de l'échantillon, proportionnel au COT initialement présent.

L'augmentation de température et de conductivité est mesurée et directement corrélée à la quantité de carbone organique total présent dans l'eau.

5.5.2.2. Conductivité indirecte avec membrane

La détection du dioxyde de carbone est réalisée dans une cellule de conductimétrie particulière.

Cette cellule est divisée en deux parties par une membrane qui ne laisse passer que les molécules de dioxyde de carbone.

D'un côté de la membrane arrivent les molécules de dioxyde de carbone, d'acide phosphorique et autres ions présents dans l'échantillon.

De l'autre côté de la membrane, circule de l'eau désionisée qui reçoit les molécules de dioxyde de carbone une fois qu'elles ont traversé la membrane.

Le dioxyde de carbone (CO_2) se transforme en acide carbonique dissous (H_2CO_3) qui se dissocie en ions hydrogénocarbonates (HCO_3^-) et hydronium (H_3O^+).

De ce fait, la conductivité de l'eau désionisée augmente de façon proportionnelle à la quantité de dioxyde de carbone présente dans l'échantillon après oxydation.

C'est en mesurant cette augmentation de conductivité qu'on déduit la concentration en carbone organique total de l'échantillon.

L'appareil « 2244 AP » de Sievers utilise ce type de détection.

**PARTIE II : APPLICATION AUX
EQUIPEMENTS DE PRODUCTION POUR
FORMES SECHES**

INTRODUCTION

Cette partie pratique a pour but de vous exposer le travail effectué au sein du Département Développement de Famar France.

Nous aborderons les différentes étapes qui ont conduit à la mise en place de la stratégie de validation du nettoyage, au niveau des équipements de production pour les formes sèches (comprimés effervescents et sachets).

Puis nous développerons la validation des méthodes de prélèvement et de dosage des résidus de contaminants.

La validation du nettoyage réalisée pour les formes liquides, s'effectuait déjà selon une méthodologie de groupage. Cette validation utilisait comme méthode de dosage des résidus, une méthode spécifique, la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).

L'entreprise met aujourd'hui en place la validation du nettoyage des formes sèches regroupant sachets et comprimés effervescents.

Ce projet de validation de nettoyage est abordé également selon une méthodologie de groupage, mais bien plus complexe que la précédente. En effet, sur le site d'Orléans, dans ce secteur fabriquant de nombreux produits différents et de durée de vie variable sur un grand nombre d'équipements non dédiés (en raison du statut de sous-traitant), la validation des procédés de nettoyage a nécessité une approche raisonnée et raisonnable. De plus, les résidus de contaminants sont recherchés majoritairement par le dosage du **Carbone Organique Total (COT)**.

Au sein du service Développement, en charge de ce projet, nous avons réalisé un état des lieux des produits et des équipements en vue de mettre au point la méthode de groupage.

Après avoir sélectionné les contaminants à rechercher et les surfaces à prélever, les méthodes de prélèvement et d'analyse des résidus ont été validées.

Enfin les prélèvements ont été réalisés, analysés et comparés à la limite d'acceptabilité fixée, conformément au protocole de validation de nettoyage préalablement établi.

1. MISE EN PLACE DE LA STRATEGIE DE VALIDATION DU NETTOYAGE

1.1. Etat des lieux

1.1.1. Les procédures de nettoyage

Les procédures de nettoyage des équipements de production sont répertoriées afin de connaître les différents types de nettoyage appliqués sur le site. Cela permet aussi de savoir pour quels équipements un détergent est utilisé ou non.

1.1.2. Les équipements

La validation du nettoyage des équipements de production pour formes sèches (comprimés effervescents et sachets) concerne d'une part les équipements de mélange et d'autre part les lignes de compression et d'ensachage.

1.1.2.1. Schémas des équipements (cf. annexes 1 et 2)

Cette étape de terrain est réalisée en collaboration avec les opérateurs. Elle permet de se familiariser avec les équipements mais également d'établir des relations de travail et d'exposer le projet afin que chacun s'implique et y adhère de façon définitive.

Les schémas permettront par la suite de repérer les points de prélèvement.

1.1.2.2. Dimensions des équipements

Il est indispensable de connaître la surface de tous les équipements en contact avec le produit, afin de pouvoir fixer une limite du taux de résidu par cm^2 .

1.1.2.3. Matériaux composant l'équipement

Il est important de connaître la nature des matériaux des équipements directement en contact avec les produits.

Majoritairement composés d'acier inoxydable, les équipements et notamment les lignes de compression et d'ensachage peuvent comporter des parties en plastiques (polypropylène, polychlorure de vinyle,...), de l'aluminium ou encore du caoutchouc.

Les caractéristiques des matériaux ont bien souvent une incidence sur la nettoyabilité des équipements.

Lors des prélèvements, le taux de récupération des résidus de contaminant est fonction de la nature du matériau composant l'équipement.

1.1.2.4. Regroupement

Les équipements sont ensuite regroupés par fonction, taille, forme ou matériau. Le regroupement vise à diminuer le nombre d'équipements à prendre en compte dans les essais de validation. Il doit cependant être réalisé en tenant compte d'un certain nombre de paramètres tels que la date de mise en service et le degré d'usure afin de ne pas éliminer d'emblée des équipements critiques.

1.1.3. Les produits

Il s'agit d'un paramètre important. Valider une méthode de nettoyage nécessite de bien connaître les produits à nettoyer qui sont des contaminants chimiques potentiels.

1.1.3.1. Caractéristiques des produits

Pour chaque spécialité, les caractéristiques suivantes sont listées :

- la forme galénique ;
- la composition qualitative et quantitative des produits (principes actifs (PA), excipients),
- la solubilité de chaque principe actif et/ou excipient majoritaire ;
- l'activité ou la toxicité des PA et/ou des excipients majoritaires (dose minimale thérapeutique, dose maximale journalière, dose létale 50) ;
- la taille de lot ;
- la nettoyabilité des produits, déterminée à partir d'un sondage auprès des opérateurs ;
- la quantité de carbone contenue dans chaque principe actif, en vue du dosage du carbone organique total.

1.1.3.2. Détermination des produits critiques ou «pires des cas »

Suite à l'étude des caractéristiques des produits, trois critères sont retenus pour la détermination des produits critiques à valider :

- la toxicité (DL 50) des principes actifs ;
- la solubilité des principes actifs ou des excipients majoritaires ;
- la nettoyabilité des produits finis.

Les produits finis sont ensuite classés selon ces trois critères.

1.2. Réalisation d'une matrice produits-équipements

La constitution d'une matrice croisant produits fabriqués et équipements est réalisée.

Cette matrice permet de connaître, pour chaque équipement, les produits qui sont fabriqués et par conséquent les contaminants potentiels susceptibles d'y être retrouvés.

Pour une même procédure de nettoyage, on établit une matrice reliant les équipements aux produits fabriqués :

Produits et formes galéniques	Liste des équipements de mélange			
	Tamis 2 mm	Conteneur 2650 L	Mélangeur Collette	Trémie
Produit A (comprimés effervescents)	X			X
Produit B (comprimés effervescents)		X	X	X
Produit C (sachets)	X		X	
Produit D (sachets)		X		X
Produit E (comprimés effervescents)	X	X	X	

Tableau VII : Matrice produits-équipements

1.3. Détermination des produits critiques par équipement

Grâce à la matrice produits-équipements, nous savons quels produits passent sur quels équipements.

Il suffit ensuite pour chaque équipement, de déterminer les produits critiques c'est à dire :

- le plus toxique ;
- le moins soluble ;
- le moins nettoyable.

Les trois groupes de produits sont classés par ordre de criticité croissante.

CRITICITE CROISSANTE ↑	PRODUITS		
	Les plus toxiques	Les moins solubles	Les moins nettoyables
	A	D	A
D	B	D	
B	C	B	
E	A	C	
C	E	E	

Tableau VIII : Classement des produits selon leur criticité

Puis une matrice reliant chaque équipement de mélange aux produits critiques est réalisée.

Equipements de mélange	Produits critiques		
	Toxicité	Solubilité	Nettoyabilité
Tamis 2 mm	A	C	A
Conteneur 2650 L	D	D	D
Mélangeur Collette	B	B	B
Trémie	A	D	A

Tableau IX : Matrice équipements – produits critiques

Cette matrice nous permet de déterminer pour chaque équipement les produits critiques à valider.

Nous avons par exemple pour le conteneur de 2650 L un seul produit critique à valider, le produit D étant le plus toxique, le moins soluble et le moins nettoyable.

Nous avons par exemple pour la trémie deux produits critiques à valider, le produit A étant le plus toxique et le moins nettoyable et le produit D le moins soluble.

Cette méthodologie permet d'alléger les essais à réaliser, selon les cas.

Trois essais consécutifs probants par équipement sont au minimum nécessaires pour déterminer qu'une méthode de nettoyage est validée.

Dans le cas présent, selon la méthodologie de groupage proposée, un à trois produits maximum par équipement peuvent être sélectionnés.

Sachant que trois essais par produit et par équipement sont nécessaires pour valider le nettoyage, nous aurons à réaliser de trois à neuf épisodes de validation, selon les équipements.

Etant donné que le nettoyage manuel est pratiqué sur une bonne partie des équipements, il est donc intéressant ici de proposer des résultats sur plus de trois essais de validation, sur la base des trois critères de sélection choisis (toxicité, solubilité et nettoyabilité). Cela permet d'augmenter la fiabilité et la solidité du raisonnement et des résultats obtenus.

1.4. Choix des contaminants à rechercher

Dans le cadre de la validation du nettoyage, le contaminant chimique recherché est généralement le principe actif.

Dans le cas des formes galéniques comportant plusieurs principes actifs, le traceur retenu peut être le composant le plus toxique, le plus concentré, le moins nettoyable ou le moins soluble.

Le choix du traceur peut parfois s'orienter vers un autre composant tel qu'un excipient, un conservateur (par exemple pour les spécialités ne comportant pas de principe actif).

De plus, lorsque la procédure de nettoyage nécessite l'utilisation d'un détergent, celui-ci sera également à prendre en compte.

1.5. Choix du critère d'acceptation

Deux critères ont été retenus par l'entreprise.

1.5.1. Critère visuel

Aucune trace de produit ne doit être visible après nettoyage.

Lorsque le contrôle visuel n'est pas satisfaisant, l'équipement doit faire l'objet d'un nettoyage selon la procédure en vigueur. En aucun cas, le prélèvement de l'équipement n'aura lieu.

1.5.2. Critère des 10 ppm

Il signifie que pas plus de 10 ppm du produit A ne doit être présent dans le produit B c'est à dire pas plus de 10 mg du produit A dans 1 kg de produit B.

La quantité de produit que l'on s'autorise à trouver, Concentration Maximale Acceptable (CMA), sur une surface donnée, doit être calculée pour chaque produit en fonction de la plus petite taille de lot suivant et de la surface du train d'équipement.

1.6. Calcul de la Concentration Maximale Acceptable (CMA)

CMA en produit A dans le produit B : 10 ppm

CMA en principe actif dans le lot suivant (ppm) :

10 ppm x % de principe actif dans le produit A

CMA en principe actif pour le train d'équipement (ppm) :

10 ppm x % d'actif dans le produit A x Plus petite taille du lot suivant (kg)

CMA en carbone pour la surface prélevée (ppm) :

$$\text{CMA en actif pour le train d'équipement} \times \frac{\text{Surface prélevée (cm}^2\text{)}}{\text{Surface train d'équipement(cm}^2\text{)}} \times \% \text{ C de l'actif}$$

CMA en carbone dans l'échantillon (ppm) :

$$\frac{\text{CMA en carbone pour la surface prélevée} \times \text{Taux de recouvrement (\%)}}{\text{Volume d'extraction (L)}}$$

Calcul de la Concentration Maximale Acceptable en carbone dans l'échantillon pour le produit fini A :

Le produit A est critique pour tous ces équipements, il contient deux principes actifs a et b.

Les équipements utilisés pour la fabrication de ce produit sont les suivants :

Equipements	Surfaces (cm ²)	Plus petite taille de lot (kg)
Tamiseur Russel	11620	500
Tamis manuel x 2	5488	150
Tamiseur Frewitt	6612	150
Conteneur 1300 L	87950	380
Ligne S2 (1 groupe)	32984	500

Tableau X : Surfaces des équipements et plus petites tailles de lot

Surface totale du train d'équipement : **144600 cm²**

□ **Pour le Produit A sur le tamiseur Russel**

- Teneur totale en principe actif dans le produit : 96,45 %
- Teneur en carbone des principes actifs : 28 %
- Surface prélevée : 25 cm²
- Taux de recouvrement de la méthode de prélèvement : 70 %
- Volume d'extraction : 0,03 L

$$\text{CMA} = 10 \times 0,9645 \times 500 \times \frac{25}{144600} \times 0,28 \times \frac{0,70}{0,03} = \mathbf{5,45 \text{ ppm}}$$

□ **Pour le produit A sur le tamis à main :**

$$\text{CMA} = 10 \times 0,9645 \times 150 \times \frac{25}{144600} \times 0,28 \times \frac{0,70}{0,03} = \mathbf{1,63 \text{ ppm}}$$

□ **Pour le produit A sur le tamiseur Frewitt :**

$$\text{CMA} = 10 \times 0,9645 \times 150 \times \frac{25}{144600} \times 0,28 \times \frac{0,70}{0,03} = 1,63 \text{ ppm}$$

1.7. Choix des méthodes de prélèvement

1.7.1. Détermination des points de prélèvement

Les points de prélèvement sont déterminés par investigation au niveau des équipements des ateliers de mélange et des lignes de compression et d'ensachage.

Des feuilles de prélèvement par produit sont élaborées, elles comprennent :

- le nom et le numéro de lot du produit nettoyé ;
- la liste des équipements en contact avec le produit ;
- le numéro de chaque équipement ;
- la date de nettoyage ;
- la date de prélèvement ;
- la localisation des points de prélèvement avec leur identification ;
- le schéma de chaque équipement.

1.7.2. Méthodes de prélèvement utilisées pour des équipements de production

Après avoir déterminé le niveau de propreté à atteindre, les méthodes de prélèvement sont définies.

Les prélèvements sont effectués, pour la plupart, par contact direct (écouvillonnage), comme préconisé par la FDA.

Des prélèvements par rinçage sont réalisés au niveau des flexibles et des tubulures.

Quant aux surfaces difficiles à prélever par contact direct (filtres plissés en acier inoxydable ou manchons des filtres pour séchoir à lit d'air fluidisé en polyester), des prélèvements par trempage sont réalisés.

1.7.2.1. Prélèvement par écouvillonnage (cf. annexe 5)

Le prélèvement est réalisé à l'aide d'un écouvillon imprégné d'eau purifiée stérilisée.

Les écouvillons ou «swabs» utilisés se composent d'une tige de polypropylène sur laquelle est thermosoudée un tissu en polyester :

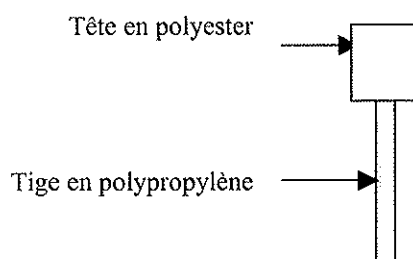


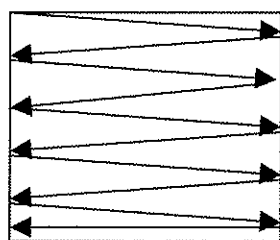
Figure 5 : Schéma de l'écouvillon ALPHA

Des pochoirs carrés en acier de 25 cm² sont utilisés pour définir la surface à prélever.

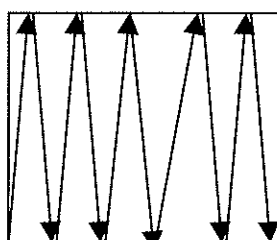
Les écouvillons sont recueillis dans des flacons en verre spécifique pour l'analyse du COT.

Mode de opératoire :

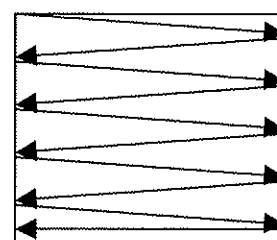
- A l'aide d'un écouvillon imprégné d'eau purifiée stérile, issue du flacon de prélèvement puis essoré sur le bord du flacon, la surface de 25 cm² est prélevée tout d'abord dans le sens horizontal avec le côté recto de l'écouvillon (A) puis dans le sens vertical avec le côté verso de l'écouvillon (B) puis à nouveau horizontalement avec le recto de l'écouvillon (C).
- L'écouvillon est rincé dans le flacon d'eau purifiée stérile et essoré entre chaque prélèvement.



1^{er} prélèvement (A)
(10 passages)



2^{ème} prélèvement (B)
(10 passages)



3^{ème} prélèvement (C)
(10 passages)

Figure 6 : Schéma du mode de prélèvement par écouvillonnage

- La tête de l'écouvillon est coupée et recueillie dans le flacon de prélèvement.

1.7.2.2. Prélèvement par rinçage

Ce type de prélèvement, utilisé au niveau des flexibles et des tubulures inox, consiste à en obstruer une extrémité et à verser un volume défini d'eau purifiée stérilisée, pendant une minute.

1.7.2.3. Prélèvement par trempage

Pour les filtres du séchoir à lit d'air fluidisé, les prélèvements se font par trempage des manchons dans un volume d'eau, pendant une minute.

1.8. Dosage du Carbone Organique Total (COT)

1.8.1. L'analyseur de COT (21, 22)

1.8.1.1. Présentation

L'analyseur de Carbone Organique Total (COT) modèle 2244 AP de SIEVERS Instruments, Inc. (cf. annexe 3 et 4) est utilisé pour le dosage. Cet appareil mesure la concentration de carbone organique total (COT), de carbone inorganique total (CIT), et de carbone total (CT = COT + CIT) dans tous les échantillons d'eau.

Le principe de l'analyse est basé sur l'oxydation de composés organiques par un rayonnement UV et un agent oxydant chimique (persulfate d'ammonium) pour former du dioxyde de carbone. Le dioxyde de carbone est mesuré par conductimétrie.

Pour chaque mesure de COT, l'appareil détermine la concentration des composés carbonés inorganiques (CO_2 , HCO^{3-} et CO_3^{2-}) et, après oxydation des composés organiques, la teneur de carbone total de l'échantillon est mesurée. La concentration des composés organiques est ensuite calculée à partir de la différence entre les concentrations de carbone total et de carbone inorganique total :

$$\text{COT} = \text{CT} - \text{CIT}$$

Le modèle 2244 AP peut être utilisé pour analyser des échantillons d'eau allant de l'eau hautement purifiée contenant moins de 0,05 parties par milliard (ppb) de carbone à des échantillons d'eau contenant jusqu'à 50 parties par million (ppm) de COT.

1.8.1.2. Principe de l'analyseur COT Sievers 2244 AP

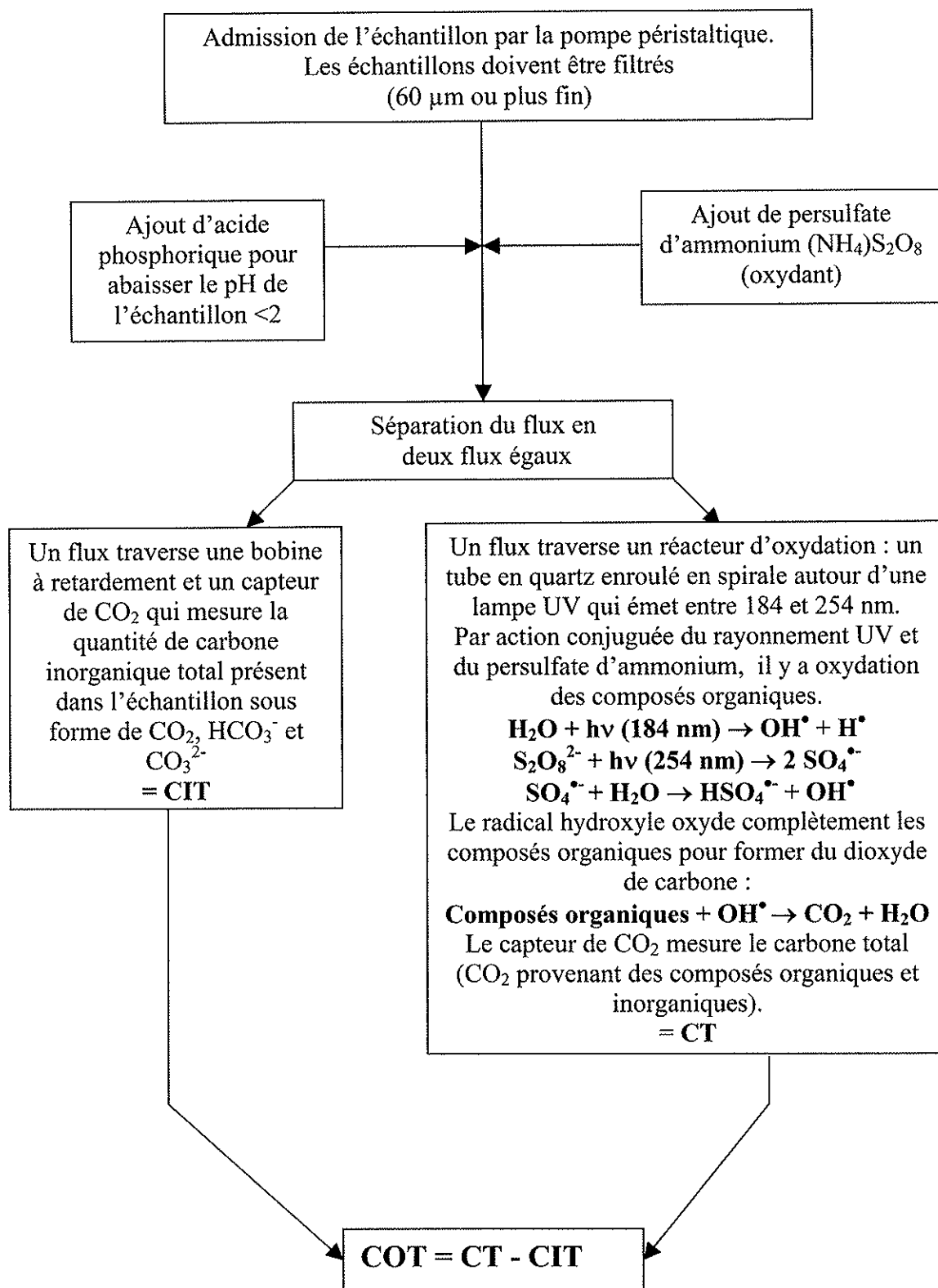


Figure 7 : Principe de l'analyseur COT Sievers 2244 AP (22)

1.8.1.3. Caractéristiques techniques du COT-mètre Sievers 2244 AP

Limite de détection : 0,05 ppb de carbone organique total (COT)

Précision en ligne : $\pm 3\%$ de la valeur de carbone total (CT)

Exactitude en ligne : $\pm 3\%$ de la valeur de CT (CT>100)

Plage linéaire : 0,05 à 50000 ppb de carbone

Temps d'analyse : 6 minutes

Température de l'échantillon : 1 à 100°C

Température ambiante : 10 à 40°C

Stabilité de l'étalonnage : 12 mois

1.8.1.4. Description des éléments du système

L'analyseur COT modèle 2244 AP est constitué de neuf éléments principaux :

- ❑ Système d'admission des échantillons et pompe à échantillons
- ❑ Réservoir de réactifs chimiques
- ❑ Pompes d'injection des réactifs
- ❑ Séparateur de flux
- ❑ Réacteur d'oxydation
- ❑ Capteur de CO₂ constitué des éléments suivants :
 - Boucle d'eau purifiée
 - Module de membrane
 - Cellule de conductivité et de température
- ❑ Contrôleur à microprocesseur et composants électroniques
- ❑ Carte d'enregistrement des données
- ❑ Entrée et sortie des données

Système d'admission des échantillons

L'analyseur de COT possède un système d'échantillonnage en ligne intégré qui échantillonne directement à partir de flacons de 40 mL.

L'eau est injectée dans l'appareil par une pompe à échantillons dont le débit est d'environ 0,35 mL/min.

Réservoirs de réactif chimique

Deux réactifs chimiques sont utilisés dans l'analyseur de COT : de l'acide phosphorique 6M (H_3PO_4) et du persulfate d'ammonium à 15% ($(NH_4)_2S_2O_8$).

Une réserve de ces réactifs pour environ trois mois de fonctionnement continu est conservée dans des récipients hermétiques dans l'appareil.

Pompes d'injection de réactif chimique

Les réactifs sont ajoutés au flux de l'échantillon au moyen de pompes d'injection contrôlées par microprocesseur.

Injection d'acide phosphorique

L'acide phosphorique est ajouté à raison de 0,2 à 1,5 $\mu L/min$ pour faire chuter le pH du flux de l'échantillon au dessous de $pH < 2$.

Débits d'acide recommandés		
Concentration en Carbone Inorganique (CI)	Sans module d'élimination du CI*	Avec module d'élimination du CI*
50-100 ppm	1,5 $\mu L/min$	3,0 $\mu L/min$
0-50 ppm	0,75 $\mu L/min$	1,5 $\mu L/min$
Eau désionisée	0,2 $\mu L/min$	Sans objet

Tableau XI : Débits d'acide recommandés par le fournisseur

* : Pour les échantillons d'eau contenant des taux importants de CI, on peut améliorer la précision des mesures de COT en ajoutant un module d'élimination du Carbone Inorganique. Cet élément est constitué d'un module de dégazage à vide et d'un piège à chaux sodée et à charbon actif.

Le dioxyde de carbone produit par la réaction du bicarbonate et du carbonate avec l'acide est éliminé du flux de l'échantillon par le vide.

L'échantillon est ensuite partagé par le séparateur de flux pour effectuer les mesures de CI et de CT. Le module d'élimination du CI permet d'éliminer environ 99% du CI pour les concentrations n'excédant pas 25 ppm.

Injection de persulfate d'ammonium

Le persulfate d'ammonium est ajouté à un débit de 0,75 µl/min pour les échantillons d'eau dont le taux de COT n'excède pas 5 ppm. Pour les échantillons contenant davantage de COT (jusqu'à 50 ppm), le débit de persulfate peut être porté à plus de 4,5 µL/min.

Si le débit d'oxydant est réglé trop bas, l'oxydation ne sera que partielle, et on obtiendra des mesures de COT sous-estimées.

Si au contraire le débit de persulfate est trop élevé, l'excès de réactif va se décomposer et former des bulles d'oxygène dans l'appareil, causant des mesures de COT erronées.

Débits d'oxydant recommandés	
Concentration en COT	Débit d'oxydant
25-50 ppm	2,0-7,0 µL/min
10-25 ppm	1,0-4,5 µL/min
5-10 ppm	0,5-2,0 µL/min
1-5 ppm	0,5-1,0 µL/min
<1 ppm	0-0,5 µL/min

Tableau XII : Débits d'oxydant recommandés par le fournisseur

Séparateur de flux

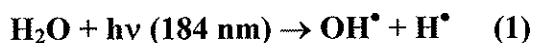
Après addition des réactifs chimiques, le flux de l'échantillon est divisé en deux flux égaux. Un flux traverse une bobine de retardement et un capteur de CO₂ qui mesure la concentration en Carbone Inorganique Total (CIT).

L'autre flux traverse le réacteur d'oxydation qui oxyde les composés organiques par un procédé photochimique pour former du CO₂. Un capteur de CO₂ mesure ensuite la concentration en Carbone Total (CT = COT + CI).

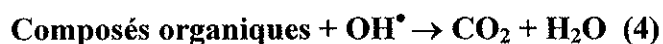
La concentration de Carbone Organique Total (COT) est obtenue en calculant la différence (COT = CT - CIT).

Réacteur d'oxydation

L'oxydation des composés organiques est réalisée par action combinée des ions persulfate et d'un rayonnement UV. Cette lampe UV émet de la lumière à 184 et 254 nanomètres, provoquant la formation de puissants agents oxydants par la photolyse de l'eau et du persulfate.



Le radical hydroxyle (OH^\bullet) oxyde complètement les composés organiques pour former du dioxyde de carbone :



Lorsque l'échantillon contient un faible taux de composés organiques (< 1 ppm), l'oxydation complète peut généralement être atteinte par les radicaux hydroxyles produits par la photolyse de l'eau (1), sans addition de persulfate.

Capteurs de CO_2

L'appareil comporte deux capteurs conductimétriques de CO_2 à membrane.

Chaque capteur de CO_2 est constitué d'une source d'eau désionisée, d'un module de membrane et d'une cellule de mesure de conductivité et de température.

- Le capteur de CI mesure la concentration de CO_2 dégagée sans oxydation, uniquement avec acidification par l'acide phosphorique.
- Le capteur de CT (Carbone Total) mesure la concentration de CO_2 après acidification et oxydation.

Module de membrane

Le module de membrane est constitué d'une membrane perméable aux gaz qui sépare le tube contenant l'échantillon d'un tube jumelé contenant de l'eau désionisée.

Cette membrane est perméable au CO_2 (et autres gaz), mais imperméable aux ions et composés organiques.

Le flux de l'échantillon traverse en continu le module de membrane tandis qu'une vanne à solénoïde contrôle le flux d'eau désionisée dans le module.

Cellule de mesure de conductivité et de température

La cellule de mesure de conductivité et de température est située à la sortie du tube d'eau désionisée du module de membrane.

Une thermistance mesure la température du flux d'eau désionisée à la sortie de la cellule de conductivité.

La conductivité est mesurée à l'aide d'une technique bipolaire à impulsions et les composants électroniques de conductivité sont étalonnés à l'aide d'une résistance de précision avant chaque cycle d'analyse.

Cycle de mesure des capteurs de CO₂

Les concentrations de CO₂ dans le flux d'échantillon sont mesurées indépendamment pendant un cycle de 6 minutes.

Au début de chaque cycle de mesure, une nouvelle impulsion d'eau désionisée est introduite dans le module de membrane, puis le flux d'eau désionisée est arrêté lorsque la vanne à solénoïde se ferme.

Le flux de l'échantillon se poursuit du côté du module de membrane.

Le dioxyde de carbone contenu dans l'échantillon diffuse à travers la membrane dans la chambre à eau désionisée et se dissocie pour former du bicarbonate (HCO₃⁻) et des ions hydronium (H₃O⁺).

Après 5 minutes, la concentration de CO₂ (aqueux) dans l'eau désionisée atteint l'équilibre avec la concentration de CO₂ (aqueux) dans le flux de l'échantillon.

Une fois l'équilibre établi, la vanne solénoïde s'ouvre pour faire rentrer de l'eau désionisée fraîche dans la chambre et transférer le CO₂ (aqueux), le HCO₃⁻ et le H₃O⁺ vers la cellule de conductivité et de température.

La vanne à solénoïde se ferme ensuite et le cycle de mesure suivant commence.

L'augmentation de conductivité de l'eau désionisée est proportionnelle à la concentration de CO₂ (aqueux) dans le flux d'eau désionisée, laquelle est proportionnelle à la concentration de CO₂ (aqueux) dans le flux de l'échantillon.

1.8.2. Qualification de l'appareil

L'appareil a été qualifié par Sievers lors de son installation. Cependant, il est nécessaire d'effectuer périodiquement certains tests afin de vérifier la conformité du système :

- les gammes d'étalonnage ;
- les tests de conformité.

1.8.2.1. Les gammes d'étalonnage

Ce test permet de vérifier la linéarité de la réponse, ainsi que la pente. Ce test est réalisé avec un produit dont la formule brute est connue.

1.8.2.2. Le test de conformité

Le test de conformité permet de vérifier le rendement d'oxydation de l'appareil.

Les réponses obtenues avec un composé difficilement oxydable (la 1,4-benzoquinone) et avec un composé facilement oxydable (le saccharose) sont comparées.

Pour cela, les solutions suivantes sont préparées :

- une solution de saccharose à 500 ppb ;
- une solution de 1,4 benzoquinone à 500 ppb ;
- une solution témoin d'eau purifiée stérile.

Les solutions de saccharose et de 1,4-benzoquinone sont préparées à partir de la solution témoin d'eau.

Ce témoin d'eau doit être une eau dont la teneur en carbone organique total est inférieur à 100 ppb et la conductivité inférieure à 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C.

La concentration des solutions de saccharose et de 1,4-benzoquinone ne sera pas exactement de 500 ppb, cela étant dû à la contribution en carbone organique de :

- l'eau utilisée pour préparer les étalons ;
- la verrerie utilisée pour la préparation des solutions.

La mesure du COT de la solution témoin d'eau est soustraite de la mesure du COT du saccharose et de la 1,4-benzoquinone.

$$\text{Efficacité de la réponse} = 100 \times \frac{(\text{COT benzoquinone} - \text{COT eau témoin})}{(\text{COT saccharose} - \text{COT eau témoin})}$$

Ce rapport reflète le rendement d'oxydation de l'appareil.

Conformément aux exigences de la Pharmacopée Européenne et de l'USP (United States Pharmacopeia), l'appareil est conforme si l'efficacité de la réponse est comprise entre 85% et 115%.

S'il arrivait que lors d'une réalisation de ce test, les résultats soient en dehors des limites fixées, alors toutes les mesures effectuées depuis le dernier test seraient suspectes, et une enquête devrait être menée.

D'un point de vue réglementaire, aucune fréquence n'est définie pour la réalisation de ce test.

L'entreprise doit donc décider de la fréquence avec laquelle elle va réaliser ce test, en tenant compte :

- du risque de mesures fausses si le test n'est pas réalisé suffisamment souvent ;
- du surplus de travail que cela implique si le test est réalisé trop souvent.

Dans notre cas, nous réalisons ce test tous les 15 jours.

2. VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE DU COT

2.1. Paramètres à valider (4, 6, 7)

Toute nouvelle méthode analytique doit être validée avant sa mise en exploitation de routine. Dans le cas du dosage du carbone organique total, les paramètres à valider sont les suivants :

- sélectivité ;
- exactitude ;
- fidélité (ou précision) ;
- limite de détection ;
- limite de quantification ;
- linéarité et intervalle de mesure ;
- stabilité des solutions.

2.1.1. Définitions

□ **Sélectivité**

La sélectivité consiste à vérifier qu'il n'y a pas d'interférence entre la substance à quantifier (le principe actif par exemple), le solvant, le flacon COT et l'écouvillon.

□ **Exactitude**

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur réelle et la valeur moyenne trouvée. Elle consiste à vérifier si les valeurs sont en accord avec la valeur théorique et fournit une indication sur les erreurs systématiques.

□ **Fidélité (ou précision)**

La fidélité d'une méthode d'analyse exprime le degré de dispersion entre une série de mesures provenant d'un même échantillon homogène dans les conditions prescrites.

□ **Limite de détection (LD)**

Le seuil de détection est la plus petite quantité d'une substance à examiner pouvant être détectée dans un échantillon, mais non quantifiée comme valeur exacte.

□ **Limite de quantification (LQ)**

Le seuil de quantification est la plus petite quantité d'une substance à examiner pouvant être détectée dans un échantillon avec une fidélité et une exactitude définies.

□ **Linéarité**

La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité, à l'intérieur d'un intervalle donné, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration de substance présente dans l'échantillon.

2.1.2. Exigences

La méthode de dosage devra répondre aux normes internes listées ci-dessous.

TESTS	NORMES
Limite de détection (LOD)	$LOD = 3,3\sigma / s$ (Ecart type/pente de la droite de calibration)
Limite de quantification (LOQ)	$LOQ = 10\sigma / s$ (Ecart type/pente de la droite de calibration)
Linéarité	$r \geq 0,999$
Répétabilité	$CV \leq 2 \text{ à } 20 \% (n \geq 6)^*$
Stabilité des solutions	12 jours : écart maximum de $\pm 5 \%$ de la valeur à T0

Tableau XIII : Exigences requises pour la validation de la méthode analytique COT

* : Coefficient de Variation en fonction des concentrations en substances à doser (une valeur de 10 à 20 % est admise pour un seuil de quantification).

2.2. Essais de validation

Les essais de validation sont réalisés pour tous les produits critiques.

Les résultats présentés ont été réalisés pour le principe actif A.

2.2.1. La sélectivité

Afin de tenir compte des interférences, dues à la verrerie, à l'eau et à l'écouvillon, un échantillon « blanc », contenant un écouvillon dans de l'eau purifiée stérile ou uniquement de l'eau purifiée stérile (selon le type de prélèvement), est analysé. La valeur de ce blanc est systématiquement déduite des valeurs de COT mesurées.

2.2.2. La linéarité

La linéarité est réalisée avec 6 concentrations de principe actif A (1, 2, 4, 6, 8 et 10 ppm de carbone).

Trois solutions de chaque concentration sont préparées et analysées.

Concentration théorique en COT (ppm)	Concentration mesurée en COT (ppm)	Moyenne ± écart type (ppm)
1	1,13 1,09 1,05	1,09 ± 0,03
2	2,19 2,22 2,11	2,17 ± 0,05
4	4,36 4,62 4,17	4,38 ± 0,18
6	6,41 6,32 6,27	6,33 ± 0,06
8	8,33 8,36 8,38	8,36 ± 0,02
10	10,27 10,06 10,18	10,17 ± 0,09

Tableau XIV : Résultats de l'analyse de la gamme de linéarité

Nous traçons la droite de régression : COT mesuré = f (COT théorique)

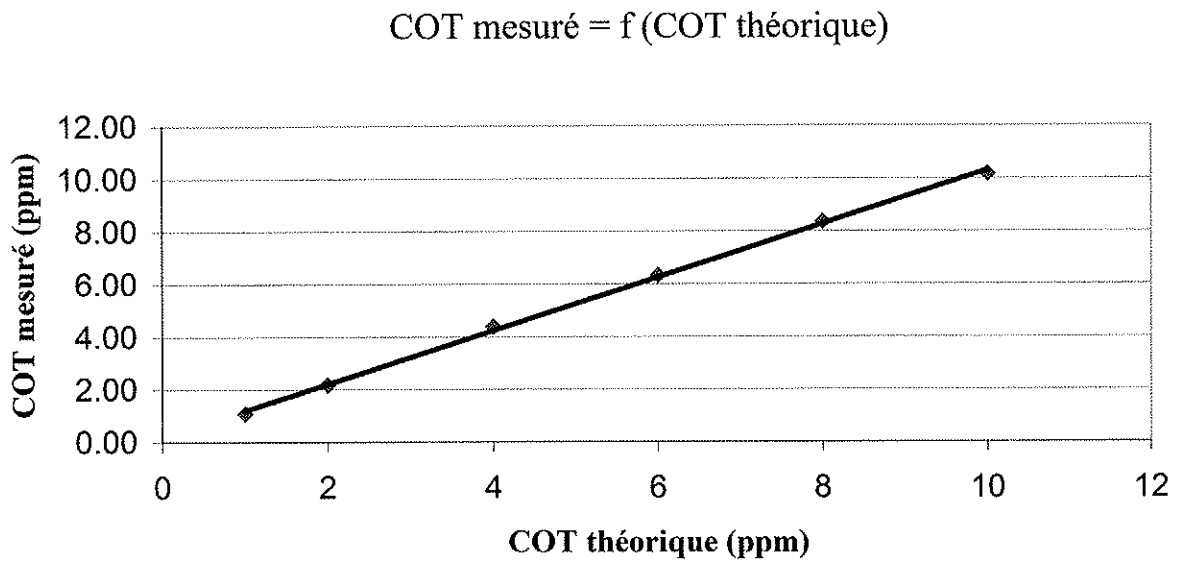


Figure 8 : Droite de régression

L'équation de la droite de régression est la suivante :

$$y = 1,0125 x + 0,1855$$

- Coefficient de corrélation : $R = 0,9995$
- Ordonnée à l'origine = $0,1855$
- Pente = $1,0125$

La méthode de dosage du COT est linéaire pour des concentrations en carbone allant de 1 à 10 ppm.

La pente est très proche de 1 ce qui indique une bonne corrélation entre les valeurs théoriques et les valeurs mesurées.

2.2.3. Limites de détection et quantification

L'estimation des limites de détection et quantification est basée sur le calcul d'écart type (σ) de la réponse d'échantillons «blancs» et de la pente (s) :

$$LD = 3,3 \sigma / s$$

$$LQ = 10 \sigma / s$$

S : pente de la droite de calibration = 1,0125

Dix « blancs swab », c'est à dire dix échantillons d'eau purifiée stérile contenant un écouvillon, sont analysés.

Essais	COT blanc swab (ppm)
1	0,245
2	0,243
3	0,279
4	0,352
5	0,358
6	0,354
7	0,393
8	0,365
9	0,481
10	0,413
Moyenne \pm écart type (σ)	0,348 \pm 0,071

Tableau XV : Résultats de l'analyse des « blancs swab »

$$LD = 3,3 \times 0,071 / 1,0125 = 0,231 \text{ ppm}$$

$$LQ = 10 \times 0,071 / 1,0125 = 0,701 \text{ ppm}$$

Nous décidons de fixer la limite de quantification à **1 ppm**.

2.2.4. La répétabilité

Elle est mesurée pour :

- une solution à 1 ppm (limite de quantification) ;
- une solution témoin à 6 ppm.

Pour chaque concentration, 6 solutions sont préparées à partir d'une même solution mère.

Concentration théorique en COT dans l'échantillon (ppm)	Concentration en COT mesurée * (ppm)	Concentration en COT moyenne ± écart type (ppm)	Coefficient de variation
1	1,02 1,03 1,10 1,09 1,01 1,09	1,05 ± 0,04	0,04 %
6	6,32 6,35 6,32 6,38 6,23 6,39	6,33 ± 0,05	0,01 %

Tableau XVI : Résultats de la répétabilité

Les coefficients de variation n'étant pas supérieurs à 2 %, nous pouvons en conclure que la répétabilité de la méthode est correcte.

2.2.5. La stabilité des solutions

Les échantillons d'eau par principe doivent être analysés le plus rapidement possible après le prélèvement.

Le laboratoire ne disposant pas à ce jour de passeur d'échantillon, le délai entre le prélèvement et l'analyse peut être de plusieurs jours.

C'est pourquoi il est impératif de s'assurer de la bonne conservation des échantillons, lesquels sont stockés, dès leur réception, dans la chambre froide du laboratoire de microbiologie (entre 4 et 9 °C).

La stabilité des échantillons a été vérifiée, dans le cas présent sur une période de 12 jours, pour :

- une solution de principe actif A à une concentration égale à la limite de quantification, soit 1 ppm de carbone ;
- une solution de principe actif A à une concentration de 6 ppm de carbone (concentration intermédiaire, comprise dans l'intervalle de validité de la méthode de dosage).

Les solutions sont réparties dans les tubes pour analyse COT puis placées en chambre froide. Trois échantillons, de chaque solution, sont analysés à T0, T4 (4 jours), T8 (8 jours) et T12 (12 jours).

Temps	Concentration théorique (ppm)	Valeur COT (ppm)	Moyenne ± écart type (ppm)
T0	1	1,04 1,00 1,03	1,02 ± 0,02
	6	6,10 6,13 6,25	6,16 ± 0,06
T4	1	1,02 0,98 1,04	1,01 ± 0,03
	6	6,29 6,37 6,43	6,36 ± 0,06
T8	1	1,04 1,10 1,08	1,07 ± 0,03
	6	6,31 6,35 6,27	6,31 ± 0,03
T12	1	1,01 1,02 1,03	1,02 ± 0,01
	6	6,37 6,27 6,33	6,32 ± 0,04

Tableau XVII : Résultats du test de stabilité des échantillons

La concentration en COT des échantillons, après stockage en chambre froide, doit être égale à la concentration mesurée à T0 \pm 5 %.

Pour l'échantillon à 1 ppm théorique : $1,02 \pm 0,05$ (ppm)
Soit entre 0,97 et 1,07 ppm.

Pour l'échantillon à 6 ppm théorique : $6,16 \pm 0,31$ (ppm)
Soit entre 5,85 et 6,47 ppm.

Les teneurs en carbone des échantillons à T4, T8 et T12 sont comprises dans les intervalles fixés. Les solutions sont stables sur la période étudiée.

2.3. Résultats des tests de validation

Limite de détection (LOD) = 0,2 ppm
Limite de quantification (LOQ) = 1 ppm

TESTS	EXIGENCES	RESULTATS	CONFORMITE
Linéarité	$R \geq 0,999$	$R = 0,9995$	Conforme
Répétabilité	$CV \leq 2 \%$	$CV = 0,04 \%$	Conforme
Stabilité des solutions	12 jours :écart de $\pm 5 \%$ de la valeur à T0	Ecart inférieur à 5 % de la valeur à T0	Conforme

Tableau XVIII : Résultats des tests de validation de la méthode de dosage du COT

3. Validation des méthodes de prélèvement (5)

La validation des méthodes de prélèvement a pour but de montrer que la méthode utilisée permet de récupérer de façon adéquate le résidu contaminant présent sur les surfaces des équipements de production. Ceci est démontré par les études de taux de recouvrement.

3.1. Taux de recouvrement

3.1.1. Définition

Le taux de recouvrement ou rendement de récupération correspond à la quantité de produit extraite de la surface par rapport à la quantité de produit réellement présente.

Il rend compte :

- ❑ du rendement de prélèvement (quantité qui reste sur la surface après le prélèvement) ;
- ❑ du rendement de traitement (quantité non désorbée de l'écouvillon lors de l'extraction).

Le taux de recouvrement est défini par la formule :

$$\text{Taux de recouvrement (\%)} = \frac{(\text{COT essai} - \text{COT blanc}) \times 100}{\text{COT théorique}}$$

3.1.2. Conditions de réalisation

Le taux de recouvrement doit être réalisé au laboratoire dans des conditions aussi proches que possible des conditions de prélèvement des équipements de production.

Pour chaque produit et chaque concentration testés, les tests de mesure du taux de recouvrement sont à mener au minimum trois fois, par plusieurs personnes différentes, pour prouver la reproductibilité de la méthode de prélèvement.

Trois concentrations minimum entourant le critère d'acceptation sont à tester.

Il doit être réalisé :

- pour chaque méthode de prélèvement (écouvillonnage et rinçage) ;
- sur chaque type de matériel en contact avec le produit ;
- pour chaque produit.

Les matériaux utilisés doivent être de qualité semblable à ceux utilisés en production et doivent être nettoyés préalablement afin d'éliminer au maximum toute trace de carbone.

3.1.3. Valeur du taux de recouvrement (16)

Il n'existe pas de normes fixant une valeur limite pour le taux de recouvrement, mais seulement des recommandations :

Lors d'une conférence tenue en décembre 1995 par la FDA et des industriels pharmaceutiques, les participants ont indiqué qu'« un taux de recouvrement de 80 à 90 % pouvait être atteint, un taux de 60 à 70 % était suspect, et un taux de 50 % ou moins était insuffisant ».

La FDA attend des industriels qu'ils réalisent trois essais de taux de recouvrement et qu'ils retiennent et utilisent la valeur la plus faible des trois et non la valeur moyenne.

La valeur du taux de recouvrement est prise en compte dans le calcul des résidus de contaminants.

3.1.4. Détermination du taux de recouvrement des prélèvements par écouvillonnage

Les essais ont été réalisés sur une plaque d'acier inoxydable.

Nettoyage de la plaque d'inox

- Rincer la plaque inox dans de l'eau déminéralisée.
- Tremper la plaque dans un bain d'acide nitrique 30 % (v/v) pendant 10 minutes.
- Rincer abondamment à l'eau déminéralisée.
- Sécher à l'étuve.

Préparation des solutions de principe actif

- Préparer une solution de principe actif à 10 000 ppm (1%) de carbone (S1).
- A partir de la solution (S1), préparer les solutions d'actif à 120, 360 et 600 ppm de carbone.

Dépôt des solutions de principe actif

- A l'aide d'une pipette, déposer au centre de chaque gabarit 0,5 mL des solutions à 120, 360 et 600 ppm.
- Un dépôt « blanc » est réalisé en déposant 0,5 mL d'eau purifiée.

Réaliser les dépôts du moins concentré au plus concentré.

Avant chaque dépôt, rincer la pipette avec la solution à déposer.

Répéter chaque dépôt 3 fois.

- Laisser les coupons sécher 48 h.

Reprise par écouvillonnage

Les dépôts sont repris par écouvillonnage, dans un flacon pour analyse COT contenant 30 mL d'eau purifiée stérile.

Concentration en COT dans l'échantillon après reprise du dépôt :

$$\text{Concentration en COT dans l'échantillon} = \text{Concentration en COT des solutions d'actifs} \times \frac{\text{Volume déposé (0,5 mL)}}{\text{Volume de reprise (30 mL)}}$$

Concentration en COT des solutions d'actif déposées (ppm)	Concentration théorique en COT dans l'échantillon (ppm)
120	2
360	6
600	10

Tableau XIX : Concentration en COT des échantillons d'eau en fonction de la concentration des solutions de principe actif déposées

□ **Calcul du taux de recouvrement pour le principe actif A**

Teneur en carbone du principe actif A : **53,07 %**

$$\text{Concentration en carbone de la solution S1 (ppm)} = \frac{\text{masse de principe actif (mg)} \times \text{\% de carbone de l'actif}}{\text{volume de solution S1 (L)}}$$

Masse de principe actif A à peser pour préparer **100 ml** de solution mère à **10000 ppm (1%)** :

$$\text{Concentration en carbone de la solution S1 (ppm)} \times \frac{\text{volume de solution S1 (L)}}{\text{\% de carbone du principe actif}} = \frac{1000 \times 0,1}{0,5307} = 188,4 \text{ mg}$$

Concentration théorique en COT dans l'échantillon (ppm)	Concentration en COT mesurée (ppm)	Concentration en COT moyenne ± écart type (ppm)	Taux de recouvrement
2	1,63	1,84 ± 0,17	92 %
	1,83		
	2,05		
6	5,69	5,90 ± 0,15	98 %
	6,00		
	6,00		
10	9,41	9,64 ± 0,21	96 %
	9,92		
	9,60		

Tableau XX : Résultats des taux de recouvrement de la méthode de prélèvement par écouvillonnage

Nous obtenons pour le principe actif A, des taux de recouvrement supérieurs à 90 %.

Le taux de recouvrement de la méthode de prélèvement par écouvillonnage, pour le principe actif A, sur des surfaces en acier inoxydable, est satisfaisant.

Afin de se placer dans les conditions les plus défavorables, nous prenons comme taux de recouvrement 92 %.

3.2. Répétabilité de la méthode de prélèvement par écouvillonnage

6 dépôts de la solution à 600 ppm de carbone du principe actif A, sont réalisés.

Concentration théorique en COT dans l'échantillon (ppm)	Concentration en COT mesurée (ppm)	Concentration en COT moyenne \pm écart type (ppm)	Coefficient de variation
10	9,41 9,92 9,60 9,65 9,50 9,90	9,66 \pm 0,19	1,96 %

Tableau XXI : Résultats de la répétabilité du taux de recouvrement

Le coefficient de variation n'étant pas supérieur à 2 %, la répétabilité de la méthode de prélèvement est correcte.

3.3. Résultats des tests de validation

TESTS	EXIGENCES	RESULTATS	CONFORMITE
Taux de recouvrement	≥ 70 %	92 %	Conforme
Répétabilité	≤ 2 %	1,96 %	Conforme

Tableau XXII : Résultats des tests de validation de la méthode de prélèvement

4. Discussion

4.1. Mise en place de la validation du nettoyage

4.1.1. Apports de la validation du nettoyage

La validation des procédures de nettoyage, réalisée au niveau de l'atelier mélange et des lignes de compression et d'ensachage, a permis de valoriser le travail des opérateurs missionnés pour le nettoyage de ces équipements.

La mise en place du contrôle visuel systématique des pièces nettoyées, réalisé conjointement avec les opérateurs de production et le personnel du service responsable des opérations de validation de nettoyage, en l'occurrence le service Développement, dans le cas présent, a permis de valoriser le nettoyage en tant qu'activité pharmaceutique au même titre que les activités de fabrication ou de conditionnement.

Le passage en revue des différentes procédures de nettoyage a permis de dresser un état des différentes pratiques de nettoyage sur le site.

Certaines procédures ont ainsi pu être optimisées ou standardisées :

- paramètres mieux définis dans le cadre de nettoyages manuels comme le temps de contact avec le détergent ou la température de l'eau ;
- ajout d'un rinçage à l'alcool à 95°C pour un meilleur séchage des pièces où la rétention d'eau est fréquente (tubulures fines et raccords) ;
- rationalisation des étapes de pré-lavage, lavage et de rinçage (méthodologies similaires à mettre en place entre les ateliers de compression et d'ensachage) ;
- intégration de nouveaux équipements (filtres plissés inox, système de pulvérisation,...) dans des procédures de nettoyage existantes.

La détermination des points de prélèvement sur les équipements a mis en évidence les points difficilement nettoyables (joints, trémies), la criticité de ces pièces étant quelquefois confirmée par un contrôle visuel non satisfaisant.

L'identification préalable des points critiques a facilité le travail de sensibilisation auprès des opérateurs afin qu'ils soient vigilants dans le nettoyage de ces pièces.

Enfin, la validation du nettoyage a permis au site de se mettre progressivement en conformité avec les exigences réglementaires nationales, européennes et internationales.

En tant que sous-traitant, le laboratoire doit également répondre aux exigences des donneurs d'ordre. La validation du nettoyage est un point qui revient fréquemment lors des audits. Le nombre de « Warnings Letters » contenant au moins une remarque sur le nettoyage ou sa validation est en constante augmentation : de 28% en 1999, il est passé à 48% en 2002.

4.1.2. Points critiques de la validation du nettoyage

Parmi les points critiques rencontrés lors de la mise en place de la validation du nettoyage, nous pouvons citer la difficulté de maîtriser les procédures de nettoyage. Au fil du temps, des écarts peuvent apparaître entre la procédure et ce qui est réellement fait sur le terrain. Ces écarts peuvent être réduits par une formation adaptée du personnel nouvellement arrivé et du personnel intérimaire, suivie d'une évaluation et de contrôles périodiques des opérations de nettoyage.

L'élaboration d'une méthode de groupage demande beaucoup de temps et de rigueur. La sélection des produits critiques est fondée sur des critères scientifiques après une étude poussée de leurs propriétés physico-chimiques, toxicologiques, etc.

L'établissement du plan de prélèvement sur les équipements représente également une étape délicate. Il doit être représentatif des surfaces prélevées et les points critiques doivent être largement représentés.

Le choix de la teneur en résidus acceptable est peut-être le point le plus critique de la validation. Il existe différentes formules pour calculer le critère d'acceptation. Ce critère est habituellement calculé par rapport à la surface totale des équipements (train d'équipement) en contact avec le produit. Cependant pour des trains d'équipements de taille très importante, le calcul du critère d'acceptation peut conduire à des résultats trop faibles et donc aberrants (inférieurs à la limite de quantification). Pour cette raison, il pourra être calculé un critère d'acceptation par équipement.

Le choix et la validation de la méthode de prélèvement est une étape qui demande du temps car la méthode utilisée doit être validée pour tous les contaminants, dans notre cas pour tous les principes actifs, et pour tous les types de matériaux en contact avec le produit (inox.

verre,...). La validation de la méthode de dosage des résidus doit également être réalisée pour tous les principes actifs.

Enfin les prélèvements sur le terrain doivent être effectués sans perturber les opérations de production d'où la nécessité de suivre et de s'adapter en permanence aux plannings de production.

4.2. Utilisation du COT pour valider le nettoyage

Le dosage du COT est une méthode qui présente l'avantage de pouvoir être utilisée pour de nombreux produits. Cependant, le problème majeur de cette technique est que les contaminants doivent être suffisamment solubles dans l'eau. Aucun autre solvant ne peut être utilisé.

Les méthodes de prélèvement et de dosage doivent être validées pour tous les contaminants recherchés ; ceux-ci doivent donc être suffisamment solubles pour que l'on puisse préparer des solutions de concentration adaptée pour effectuer les différents tests (linéarité, recouvrement de la méthode de prélèvement).

Dans le cas où le contaminant recherché n'est pas suffisamment soluble dans l'eau, un autre solvant doit être utilisé pour le prélèvement (éthanol par exemple). Dans ce dernier cas, le dosage de l'échantillon devra se faire à l'aide d'une autre méthode, généralement la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).

En cas de dépassement de la limite d'acceptation, une autre méthode d'analyse spécifique devra être mise en oeuvre.

CONCLUSION GENERALE

L'activité de nettoyage des équipements et sa validation font partie intégrante des procédés de production.

La validation du procédé de nettoyage est une opération essentielle qui permet d'éviter les risques de contaminations croisées, microbiologiques et particulières. C'est aussi un point critique lors d'audit ou d'inspection.

La validation du nettoyage est une tâche complexe dont le succès repose sur une stratégie élaborée et mûrement réfléchie.

La principale difficulté de la validation du nettoyage consiste à choisir les éléments qui permettront d'évaluer au mieux la contamination résiduelle et de valider son élimination.

Dans le cas de la validation du nettoyage des équipements de production pour formes sèches, nous avons établi un état des lieux complet et recherché les produits critiques à valider pour chaque équipement.

Cette méthode de groupage a permis de sélectionner un nombre restreint de produits critiques, et par conséquent d'essais, limitant ainsi l'ampleur de la validation.

La validation de la méthode analytique et de la méthode de prélèvement est ensuite réalisée pour tous les produits critiques.

La méthode de prélèvement par écouvillonnage donne des résultats satisfaisants, avec des taux de recouvrement de plus de 90% sur l'inox.

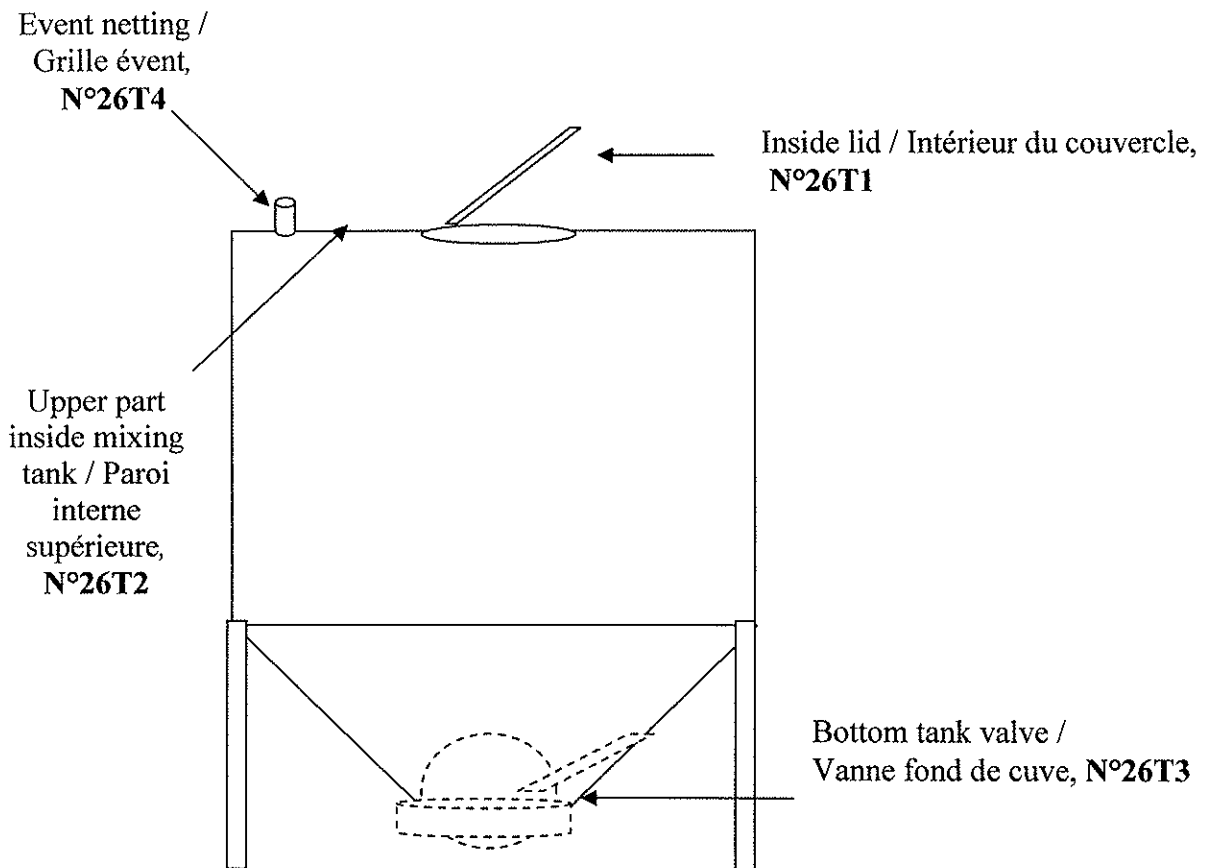
Les premiers protocoles de validation de nettoyage ont été établis et seront suivis des essais de validation.

BIBLIOGRAPHIE

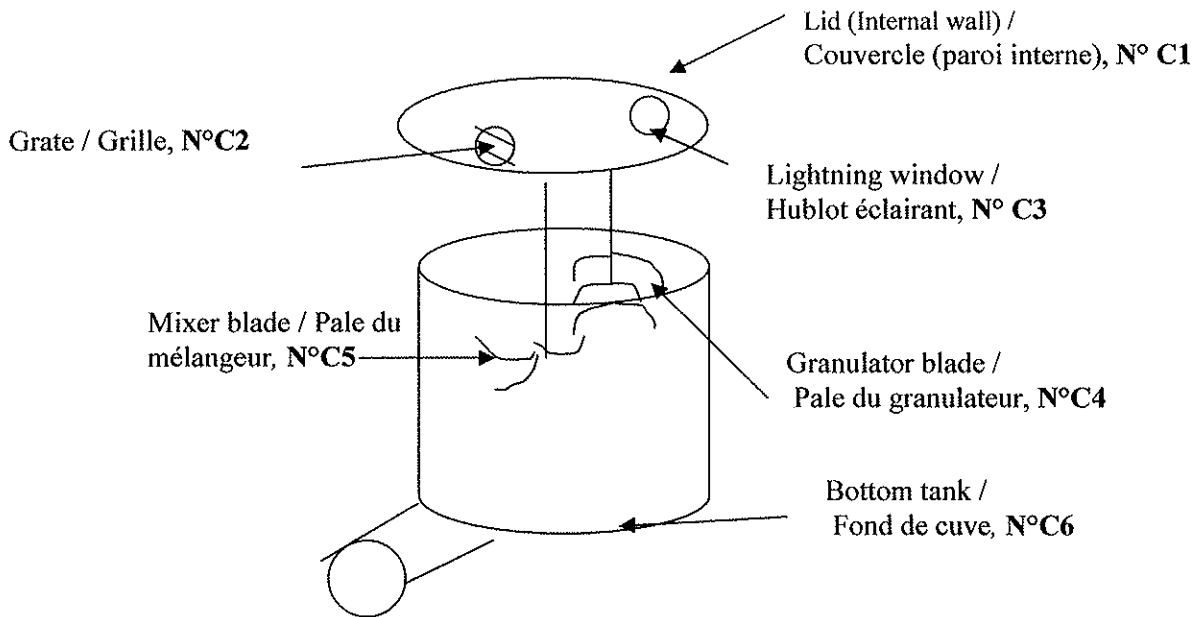
1. A.F.N.O.R. [Association Française de Normalisation] - Norme NF-EN 1484 : Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total dissous, 1997
2. BOUSQUET-BEDU M., DUMANT A. - Site pharmaceutique multiproduits : Méthodes de groupage en vue de simplifier la validation de nettoyage. - STP Pharma Pratiques, 2000, 10, 5, 274-278
3. BRUHL C. - Validation du nettoyage des équipements de production : méthodologie générale et exemple rétrospectif. Thèse de doctorat en pharmacie. – Châtenay-Malabry : Université de Paris XI, 2001. – 112 p.
4. CLARK K. - Total organic carbon analysis for cleaning validation in pharmaceutical manufacturing . - Journal of validation technology, 2000, 6, 4, 696-700
5. COMMISSION SFSTP, BOUSQUET-BEDU M., LABAN F. *et al.* - Méthodes de prélèvement et méthodes analytiques pour le contrôle et/ou la validation du nettoyage. - STP Pharma Pratiques, 2005, 15, 1, 1-92
6. E.M.E.A. [The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products] – I.C.H. – Note for guidance on validation of analytical methods : definitions and terminology. 1995. 5 p.
7. E.M.E.A. [The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products] - I.C.H. – Note for guidance on validation of analytical procedures : methodology. 1997. 9 p.
8. F.D.A. [Food and Drug Administration]- Guide to inspections Validation of Cleaning Processes.
Division of Field Investigations, Office of Regulatory Affairs, Rockville, MD, Juillet 1993.
[en ligne]. Disponible sur : <http://www.fda.gov>. (Page consultée le 6 avril 2005)
9. INSPECTORAT DE LA D.G.P.S.A. [Direction générale des produits de santé et des aliments]- Directive sur la validation des procédés de nettoyage. [en ligne]. Disponible sur : http://www.hc-sc.gc.ca/hpfb-dgpsa/inspectorate/clean_val_gui_entire_f.html.
(Page consultée le 14 avril 2005)
10. JENKINS K.M., VANDERWIELEN A.J. – Cleaning validation : an overall perspective. – Pharmaceutical Technology, 1994, 18, 4, 60-73
11. LABAN F. - Validation des procédés de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : commission GREPIC qualité, FAMAR Boigny/Bionne, 17 mars 2005, 36 p.
12. LABAN F. - Validation du nettoyage, quelle stratégie adopter ? - STP Pharma Pratiques, 2000, 10, 3, 231-232
13. LABAN F., BOULOUMIE C., BOUSQUET BEDU M. - Validation des procédés de nettoyage : constat de mauvaises pratiques. - STP Pharma Pratiques, 2000, 10, 5, 270-271

14. LABAN F., BOULOUMIE C., BOUSQUET BEDU M. *et al.* - Choix et qualification des produits détergents et désinfectants dans l'optique d'une validation d'un procédé de nettoyage et/ou de désinfection – Rapport d'une commission SFSTP. - STP Pharma Pratiques 1999, 9, 3, 251-257
15. LABAN F., CAUWET M., CHAMPAULT V. *et al.* - Validation des Procédés de Nettoyage, Rapport d'une Commission SFSTP. - STP Pharma Pratiques, 1996, 6, 1, 5-40
16. LEE J.Y. - FDA Compliance for Cleaning Validation. - STP Pharma Pratiques, 2000, 10, 5, 292-295
17. MINISTERE DE L' EMPLOI ET DE LA SOLIDARITE, Direction Générale de la santé, Agence du médicament. - Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication. - 5^e éd., n°98/5 bis, Journaux Officiels. 1998
18. PETEY S. – Maîtrise des contaminations croisées en industrie pharmaceutique : application à la validation des procédés de nettoyage. Thèse de doctorat en pharmacie. – Strasbourg : Université de Strasbourg, 2004. – 118 p.
19. RENAUD F. - Validation du nettoyage des équipements de conditionnement des formes sèches : application au conditionnement primaire des comprimés et gélules. Thèse de doctorat en pharmacie. – Lyon : Université de Lyon I, 2003. – 154 p.
20. RUEY-CHING H. - How to establish an effective maintenance program for cleaning validation. - Pharmaceutical Technology, 2000, 62-72
21. SIEVERS Instruments, Inc. - Sievers analyseur de carbone organique total modèle 2244 AP. Manuel d'utilisation et de maintenance. Microprogramme version 1.00CAP ou ultérieure. 1999
22. SPORTIELLO A. - La validation des procédures de nettoyage par la mesure du carbone organique total. Thèse de doctorat en pharmacie. – Paris : Université de Paris V, 2003. – 106 p.
23. TOURNEUX I. - Validation du nettoyage d'un atelier de conditionnement dans un laboratoire de production pharmaceutique. Thèse de doctorat en pharmacie. – Châtenay-Malabry : Université de Paris XI, 2002. – 90 p.
24. ZELLER A.O. – Cleaning validation and residue limits : a contribution to current discussions. - Pharmaceutical Technology Europe, 1993

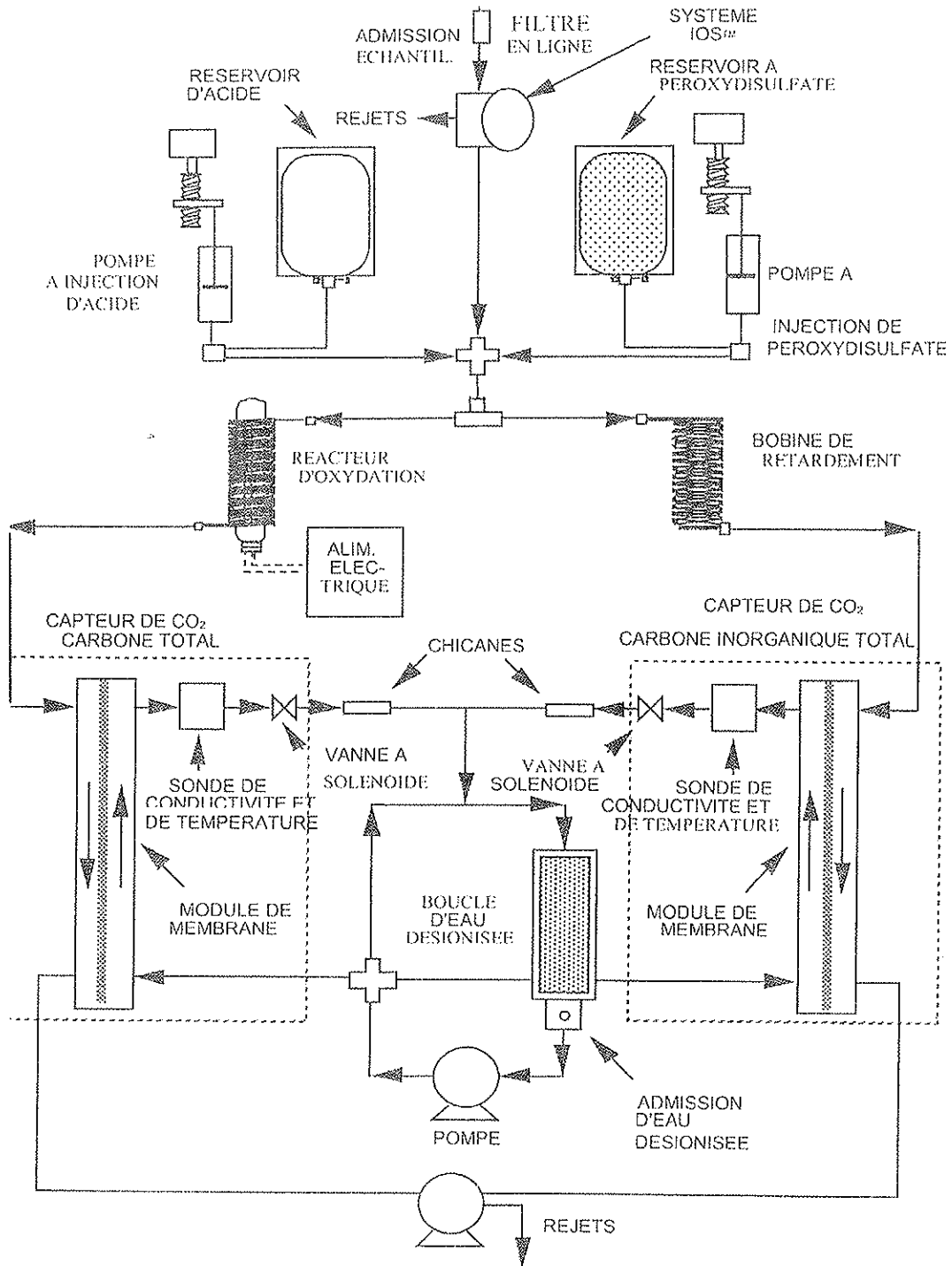
Annexe 1 : Schéma d'un conteneur de 2650 litres avec les points de prélèvement

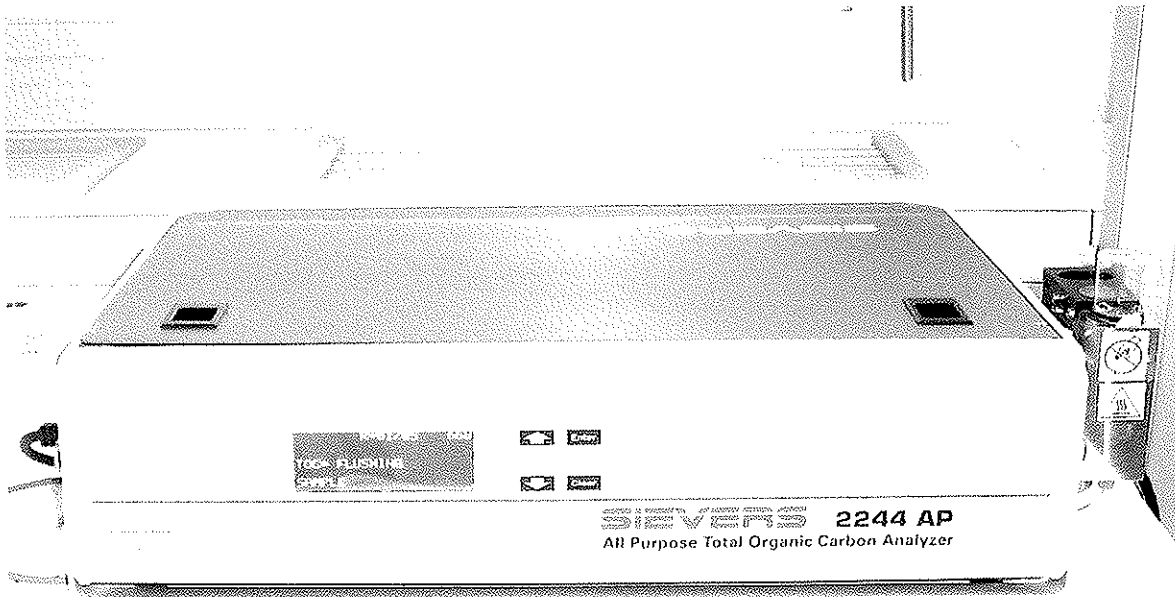


Annexe 2 : Schéma du mélangeur Collette MPH avec les points de prélèvement

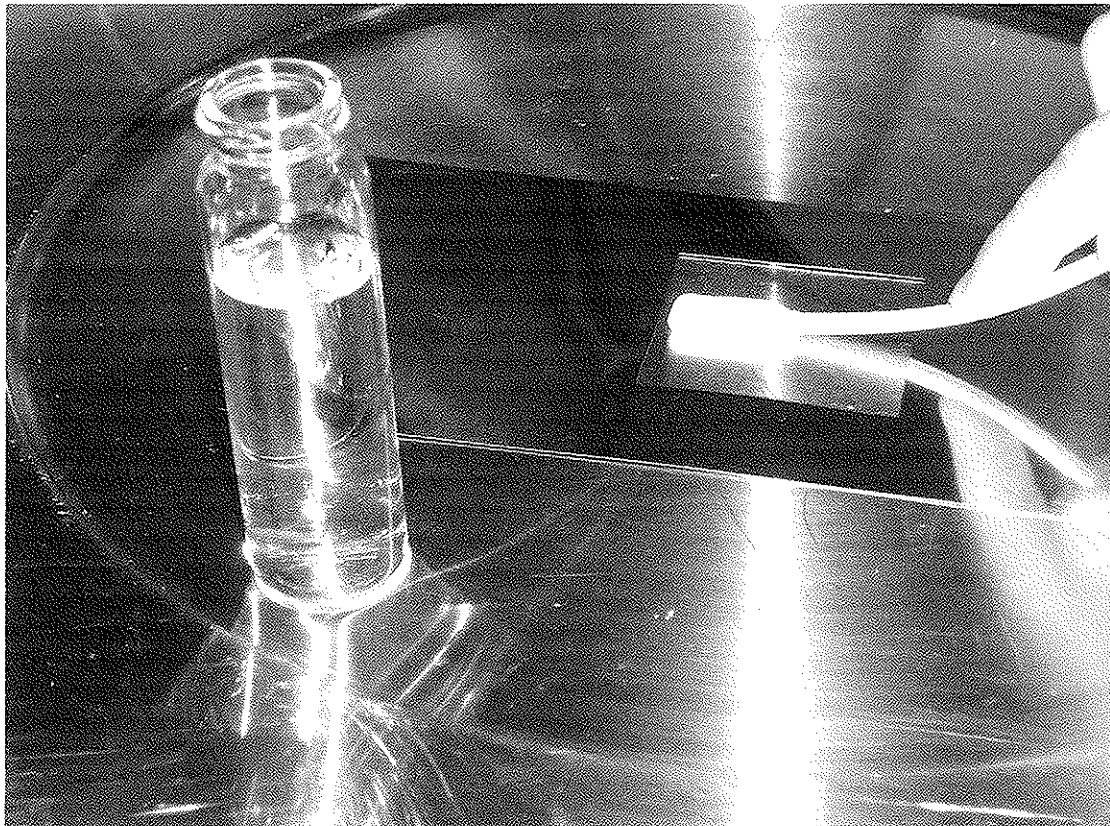


Annexe 3 : Schéma de l'analyseur COT modèle 2244 AP





Annexe 4 : Analyseur de COT Sievers



Annexe 5 : Prélèvement par écouvillonnage

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 337

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

RESUME en français

La validation du nettoyage, apparue dans l'industrie pharmaceutique dans le but de diminuer les risques de contamination croisée, est aujourd'hui devenue une exigence réglementaire. Parmi les méthodes analytiques pouvant être utilisées pour quantifier les résidus de contaminants, le dosage du Carbone Organique Total (COT) est une méthode non spécifique, qui permet de détecter pratiquement tous les contaminants rencontrés dans l'industrie pharmaceutique. Cette méthode, rapide et simple à mettre en œuvre, est depuis peu acceptée par la FDA (Food and Drug Administration) dans le cadre des validations de nettoyage des équipements de production.

Ce document aborde, dans une première partie, la méthodologie générale de la validation du nettoyage et le principe du dosage du COT.

La seconde partie décrit la validation du nettoyage appliquée aux équipements de production ainsi que la validation des méthodes de dosage et de prélèvement.

TITRE en anglais

THE CLEANING VALIDATION OF MANUFACTURING EQUIPMENTS BY THE WAY OF TOTAL ORGANIC CARBON DOSAGE

RESUME en anglais

The cleaning validation, which has been used in the pharmaceutical industry in order to reduce the risks of cross contamination, has become a regulation requirement. Among the analytical methods which can be applied to quantify the contaminant remains, the Total Organic Carbon (TOC) assay is a non specific method able to detect practically all the contaminants which can be found in the pharmaceutical industry. This quick and easy-to-use method has recently been accepted by the FDA (Food and Drug Administration) for the cleaning validation of manufacturing equipments.

In the first part, this document deals with the general methodology used for cleaning validation and the TOC assay.

In the second part, the cleaning validation applied to manufacturing equipments is described as well as the validation of assay and sampling methods.

DISCIPLINE – SPECIALITE DOCTORALE

Pharmacie

MOTS-CLES

Industrie pharmaceutique - Nettoyage - Validation - Carbone Organique Total

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE

U.F.R. de Pharmacie – 2 rue du Docteur Marcland – 87025 LIMOGES CEDEX