

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Soutenue publiquement le 21 juin 2012

Par Mlle DANDJINO Maëlle Ifèdè

Née le 31 janvier 1988 à Amiens

Validation de nettoyage : enjeux et mise en place

Membres du jury:

Président: Mlle Gayot Anne, Professeur de Pharmacotechnie Industrielle,
Faculté des sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Membres extérieurs:

Mme Arnould Aude, Responsable du Pôle Matières et Pesée, Les Laboratoires
Servier (Gidy)

Mme Wautelet Anne-Lise, Responsable Assurance Qualité, Laboratoire Delpharm
(Lys-les-Lannoy)



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64



Université Lille 2
Droit et Santé

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Christian SERGHERAERT
Vice- présidents :	Madame Stéphanie DAMAREY
	Professeur Marie-Hélène FOSSE-GOMEZ
	Professeur Régis MATRAN
	Professeur Salem KACET
	Professeur Paul FRIMAT
	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
	Professeur Patrick PELAYO
	Madame Claire DAVAL
	Madame Irène LAUTIER
	Monsieur Larbi AIT-HENNANI
	Monsieur Rémy PAMART
Secrétaire général :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Luc DUBREUIL
Vice-Doyen, 1 ^{er} assesseur :	Professeur Damien CUNY
Assesseurs :	Mme Nadine ROGER
	Professeur Philippe CHAVATTE
Chef des services administratifs :	Monsieur André GENY

Liste des Professeurs des Universités :

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BAILLEUL	François	Pharmacognosie
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mlle	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mlle	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3

M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Générale
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY –MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mlle	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	VION	Daniel	Droit et déontologie pharmaceutique

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M	BRUNET	Claude	Pharmacologie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie et Virologie Cliniques
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GAMOT	André	Chimie Analytique
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LHERMITTE	Michel	Toxicologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)
M.	BONTE	Jean-Paul	Chimie Analytique et (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Générale
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
M.	BEGHYN	Terence	Chimie Thérapeutique 3
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BOUTILLON	Christophe	Chimie Organique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARATO	Pascal	Chimie Thérapeutique 2
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mlle	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mlle	CHARTON	Julie	Chimie Organique
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie

M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mlle	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mlle	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Melle	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mlle	FLAMENT	Marie-Pierre	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
Melle	GARAT	Anne	Toxicologie
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOFFARD	Anne	Virologie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	LORIN-LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Melle	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Pharmacie Galénique
Mme	POMMERY	Nicole	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Melle	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
Mme	THUILLIER	Pascale	Hématologie
Mme	VANHOUTTE	Geneviève	Biochimie
Mme	VITSE	Annie	Parasitologie
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Clinique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ABADIE	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	CREN	Yves	Information Médicale - Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques - Pharmacie virtuelle

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique



Université Lille 2
Droit et Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

Aux membres du jury

Mademoiselle le Professeur Anne Gayot,

Professeur de Pharmacotechnie Industrielle à la faculté de pharmacie de Lille

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider cette thèse malgré toutes vos occupations,

Pour les enseignements que vous m'avez dispensé pendant les années de pharmacie et le master,

Pour l'aide précieuse que vous m'avez apporté dans le choix de ma carrière industrielle,

Veillez trouver ici le témoignage de mon plus profond respect et de ma reconnaissance pour votre soutien.

Madame Aude Arnould,

Pharmacien, Responsable du Pôle Matières et Pesées (Laboratoires Servier - Gidy)

Pour avoir accepté de faire partie de mon jury,

Pour m'avoir accueillie en stage à la centrale de pesée,

Pour vos conseils avisés sur le métier de pharmacien industriel,

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

Madame Anne Lise Wautelet,

Pharmacien, Responsable du service Assurance Qualité du Laboratoire Delpharm (Lys les Lannoy)

Pour avoir accepté de participer à ce jury,

Pour notre collaboration au sein de Delpharm,

Soyez assurée de ma respectueuse considération.

A mes parents,

Je souhaiterais vous remercier pour le cadeau que vous m'avez fait en me donnant la vie.

Maman, merci pour ton dévouement et ton rôle de guide pendant toutes ces années.

Papa, merci pour les encouragements et le soutien moral infaillible.

A vous deux, merci pour la détermination que vous avez su m'insuffler pendant mon enfance et qui m'aidera pour toute ma vie.

A Roxane,

Ma chère sœur, malgré nos fréquentes disputes et points de discorde, ta présence m'a été indispensable pendant toutes ces années et je te souhaite de réussir dans la voie que tu as choisie.

A Hervé,

Merci pour ton soutien et ton accompagnement pendant la période de rédaction de cette thèse.

A ma famille de Lille,

Tata Macie, tonton Hope, Tatiana, Yohann, tonton Waby, Mr Bonaventure, je vous remercie de m'avoir accueillie dès mon arrivée à Lille et d'avoir facilité mon installation. Merci pour l'accompagnement que vous avez su m'apporter pendant ces six années d'études.

A mes amis de Montaigne,

Atinoukê, Nadia, Jean-Marc, Ange-Régis et tous les autres, depuis le bac on a essayé de maintenir le contact. Je vous adresse mes remerciements pour votre soutien, vos conseils et votre présence dans ma vie toutes ces années et ce malgré la distance. Je vous souhaite de vous réaliser.

A mes amis, collègues de la faculté de pharmacie de Lille,

Aïfale, Gaëlle, Jennifer, Caroline, Marie, Yannick, Pierre-andré et tous les autres que je n'ai pas cité, un grand merci pour les encouragements, la solidarité durant toutes ces années de pharmacie.

Vous avez traversé les mêmes épreuves que moi et vous seuls comprenez la difficulté mais surtout la beauté du métier de pharmacien. A tous, je souhaite de réussir dans le domaine que vous avez choisi.

Table des matières

Remerciements	7
Table des matières	9
Listes des figures et tableaux	11
Liste des abréviations	12
Introduction	13
Définitions	14
Partie I : La contamination et les moyens de lutte	15
1. La contamination	16
2. Prévention de la contamination	20
2.1. Application des 5M en production	20
2.2. Formation et Hygiène du personnel	21
2.3. Gestion des flux matières et personnels	22
3. Lutter contre la contamination : le nettoyage	22
3.1. Mécanisme du nettoyage	22
3.2. Paramètres influençant le nettoyage	23
3.3. Les méthodes de nettoyage existantes	24
3.4. Les agents de nettoyage	26
3.5. Traçabilité du nettoyage	28
Partie II : La Validation de nettoyage	29
1. contexte qualité	30
1.1. Définition	30
1.2. Généralités	30
1.3. Place de la validation de nettoyage dans le système qualité	31
2. Une exigence réglementaire	32
2.1. Historique	32
2.2. Les différents guides, points communs	33
3. Préalables à la validation de nettoyage	34
3.1. Pré-validation	34
3.2. Qualification du matériel de production	35
3.3. Acteurs de la Validation de Nettoyage	36
3.4. Qualification du matériel de nettoyage et des agents de nettoyage	37
3.5. Habilitation du personnel au nettoyage	37
4. Mise en place et déroulement	38
4.1. Site multi produit	39
4.2. Site mono produit	41
4.3. Critères d'acceptation	41
4.3.1 Critère du Visuellement propre	42
4.3.2 Critère de 10 ppm	42
4.3.3 Critère du millième	43
4.3.4 Choix du critère d'acceptation le mieux adapté	44

4.4.	Points de prélèvement.....	44
4.4.1	Classement par criticité	44
4.4.2	Nombre de points de prélèvement	44
4.5.	Choix du matériel de prélèvement	44
4.6.	Les méthodes de prélèvement	45
4.6.1	Méthodes directes	45
4.6.2	Méthodes indirectes	46
4.6.3	Avantages et inconvénients de ces méthodes.....	46
4.6.4	Placebo	47
4.7.	Les méthodes d'analyses	47
4.7.1	Analyses microbiologiques	47
4.7.2	Analyses physico chimiques	49
4.7.3	Détergent	52
4.8	Validité du nettoyage.....	52
4.8.1	Temps de latence entre la fin de la production et le début de nettoyage ..	52
4.8.2	Temps de latence entre la fin du nettoyage et le début de la production ..	53
4.9	Exploitation des résultats	53
4.10	Système documentaire.....	53
4.10.1	Le protocole de validation	53
4.10.2	La procédure de nettoyage	54
4.10.3	Le rapport de validation	54

Partie III : Application et Enjeux d'une validation de nettoyage.....55

1.	Cas pratique : validation de nettoyage appliquée à un équipement de centrale de pesée ..	56
1.1.	Présentation du contexte.....	56
1.2.	Description des excipients.....	56
1.3.	Définition du worst case produit	57
1.4.	Description de l'équipement et de son fonctionnement.....	57
1.5.	Choix des points critiques	60
1.6.	Mise en place du protocole et de la méthode de nettoyage	60
1.7.	Prélèvements et analyses	61
1.8.	Résultats et interprétation	61
2.	La validation périodique de nettoyage et intérêt.....	63
3.	Les points clés pour réussir la validation de nettoyage	64
4.	Enjeux actuels et problématiques liés au sujet de la validation de nettoyage.....	65
4.1.	Enjeux environnementaux	65
4.2.	Enjeux liés à la productivité et la compétitivité.....	67
4.3.	Enjeux normatifs	68

Conclusion générale.....71

Références bibliographiques72

Listes des figures et tableaux

Figure 1 : Les sources de contamination

Figure 2 : Diagramme d'Ishikawa sur les sources de contamination

Figure 3 : Théorie de la détergence

Figure 4 : Le cercle de Sinner

Figure 5 : Choix du détergent en fonction de la souillure

Figure 6 : Les étapes de qualification d'un équipement

Figure 7 : Les pré requis pour la validation de nettoyage

Figure 8 : Mise en œuvre des prélèvements par la méthode d'essuyage ou swabbing

Figure 9: Photo descriptive de l'équipement Big-Bag (ligne 2)

Figure 10 : Photo d'une vanne Buck

Figure 11 : Mécanisme d'action de la vanne Buck

Tableau 1 : Tableau comparatif des méthodes de nettoyage

Tableau 2 : Les différents types de tensioactifs

Tableau 3 : Avantages et inconvénients d'une validation

Tableau 4 : Exemple de tableau représentant les critères pour les produits

Tableau 5 : Groupage produits et équipements

Tableau 6 : Avantages et inconvénients des méthodes de groupage

Tableau 7 : Avantages et inconvénients des méthodes de prélèvement

Tableau 8: Comparaison des méthodes microbiologiques

Tableau 9: Comparaison des méthodes d'analyses physico-chimiques

Tableau 10 : Résultats de la validation de nettoyage

Liste des abréviations

5 M : Main d'œuvre, Matière, Milieu, Méthodes, Matériel

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé

ASPEC: Association de Prévention et d'Etude de la Contamination

BPF: Bonnes Pratiques de Fabrication

COT: Carbone Organique Total

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

FDA: Food Drug Administration

EMA: Agence Européenne du Médicament

GMP: Good Manufacturing Practices

ICH: International Conference of Harmonization

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

NEP: Nettoyage en Place

ppm: Partie par millions

QD: Qualification du Design

QI: Qualification d'Installation

QO: Qualification Opérationnelle

TA: Tensioactif

Th: Titre hydrotimétrique

USP :Unites States Pharmacopeia

UV : Ultra-Violet

Introduction

L'histoire de l'industrie pharmaceutique a été émaillée d'évènements plus ou moins dramatiques qui ont fait prendre conscience aux industriels et aux gouvernements du risque pour la santé publique lié aux contaminations. Aujourd'hui, le médicament est l'un des produits les plus surveillés et les plus sécurisés dans un secteur industriel toujours plus complexe et fondé sur une société de consommation toujours plus exigeante.¹

En 1940, la contamination croisée d'un lot de comprimés de sulfathiazole, aux Etats-Unis, par du phénobarbital a eu pour conséquence 300 morts. Plus récemment, un sirop antitussif a été contaminé en 2007, au Panama, par du diéthylène glycol introduit à la place de la glycérine. Cet accident a causé 400 morts en Chine, en Argentine et au Bangladesh et est lié à une absence de contrôle des matières premières avant l'emploi. Des faits marquants comme ceux cités ci-dessus illustrent l'importance de la maîtrise de la contamination. Dans un souci de sécuriser la production des médicaments, des exigences sont apparues notamment en termes de nettoyage des équipements de production.

Le nettoyage occupe une place capitale au sein des processus d'assurance qualité dans l'industrie pharmaceutique. C'est le processus qui fiabilise l'absence de contamination d'origine diverse et de ce fait garantit la qualité du médicament.

Lors des inspections réalisées par les autorités de santé, la validation des procédés de nettoyage par l'entreprise est évaluée. Les industries de santé ont l'obligation de se poser la question du nettoyage des équipements de production d'une part pour des raisons éthiques, le médicament produit est destiné à un patient et d'autre part pour des raisons réglementaires.

Dans un premier temps, notre travail se propose d'exposer de manière globale la contamination dans l'industrie pharmaceutique et les moyens de lutte associés.

Le nettoyage est le moyen le plus efficace à l'heure actuelle pour remédier à la contamination. Nous nous intéresserons dans une deuxième partie, à l'organisation d'une validation de nettoyage, de la conception du projet à la mise en place. Le travail sera ensuite illustré par le cas d'une validation de nettoyage en centrale de pesée.

En dernier lieu, dans ce travail, il s'agit de faire un bilan sur la réalisation d'une validation de nettoyage et de présenter les enjeux actuels liés à cette méthode, à savoir les enjeux environnementaux, normatifs et ceux liés à la productivité et à la compétitivité.

Définitions

Dans le but de faciliter la compréhension de notre travail, il nous paraît important de définir certains termes qui sont couramment employés.

Propre : Etat d'un milieu, d'un matériel ou d'un local dont l'aspect correspond à un nettoyage soigneux. (Guide ASPEC, Gestion du risque de contamination croisée dans l'industrie pharmaceutique)

Nettoyage : Action de séparer et d'éliminer des souillures généralement visibles d'une surface. L'objectif à atteindre est du domaine de la propreté visuelle.⁴

Mesures prises pour l'élimination d'un produit dont la présence à l'état de traces dans un autre produit présente un risque mineur. Le nettoyage est l'étape préalable. (Guide ASPEC, Gestion du risque de contamination croisée dans l'industrie pharmaceutique)

Ensemble des opérations permettant d'assurer un niveau de propreté, d'aspect, de confort et d'hygiène et faisant appel, dans des proportions variables, aux facteurs combinés suivants : action chimique, action mécanique, température et temps. (Norme NF X 50-790)

Décontamination : Action de séparer et d'éliminer des souillures généralement invisibles d'une surface. La décontamination est complémentaire au nettoyage qui est un préalable indispensable. L'objectif à atteindre est du domaine de l'ultra propreté.⁴

Mesures prises pour l'élimination d'un produit dont la présence à l'état de traces dans un autre produit présente un risque majeur voire critique. Le nettoyage est l'étape préalable. (Guide ASPEC, Gestion du risque de contamination croisée dans l'industrie pharmaceutique)

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

Désinfection : Opération, au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer des micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés. (Norme NF T 72-101)

Détergent : Produit dont la composition est spécialement étudiée pour le nettoyage selon un processus mettant en œuvre les phénomènes de détergence. (Norme NF EN ISO 862)

Détergence : Processus selon lequel des salissures (souillures) sont détachées de leur substrat et mises en solution ou en dispersion. Au sens ordinaire, la détergence a pour effet le nettoyage des surfaces. Elle est la résultante de la mise en œuvre de plusieurs phénomènes physico chimiques. (NF EN ISO 862)

Contamination : On définit la contamination par la présence d'un élément indésirable (solide ou liquide) dans un produit, dans un fluide, sur une surface ou dans un espace protégé. (Guide ASPEC, Gestion du risque de contamination croisée dans l'industrie pharmaceutique)

Partie I : La contamination et les moyens de lutte

1. La contamination

Généralités

Au cours des différentes étapes de production, le médicament peut être exposé à plusieurs sources de contaminations volontaires et involontaires. Pour cette raison, des moyens de lutte sont aujourd'hui mis en place par l'industrie pharmaceutique pour maîtriser la contamination et ainsi garantir la qualité des médicaments disponibles sur le marché.

Il existe différents types de contamination pouvant être regroupés en trois catégories² :

La contamination particulière

La contamination particulière représente toutes les substances qui n'entrent pas dans la composition du médicament (toute substance différente des principes actifs ou des excipients). Ces substances contaminantes peuvent provenir de l'usure des équipements, du personnel, du procédé de fabrication, de l'atmosphère.

La contamination microbiologique

La contamination microbiologique provient des organismes vivants tels que les levures, les moisissures, les bactéries et les virus qui dans des conditions qui leur sont favorables (température, humidité, pH, apport nutritif ...) se développent et se multiplient rapidement pour coloniser des surfaces. Ces microorganismes peuvent être détectés et quantifiés par des techniques de microbiologie.

La contamination chimique

La contamination chimique se fait par les principes actifs, les excipients, les produits intermédiaires et les agents de nettoyage. La majorité des contaminations chimiques ont pour origine une contamination croisée.

La contamination croisée consiste en l'apport involontaire d'un produit ou de l'un de ses constituants dans un autre produit de façon directe ou par l'intermédiaire d'un équipement mal nettoyé par exemple. Ce type de contamination est la plus redoutée par les industriels.

Ce risque de contamination croisée accidentelle a pour origine la libération incontrôlée de poussières, gaz, vapeurs, aérosols ou organismes à partir des matières premières et des produits en cours de fabrication, des résidus provenant du matériel et des vêtements des opérateurs. L'importance du risque varie selon le type de contaminant et de produit contaminé. Parmi les contaminants les plus dangereux, on trouve les substances hautement sensibilisantes, les préparations biologiques contenant par exemple des organismes vivants, certaines hormones, les cytotoxiques ou d'autres médicaments hautement actifs. (BPF chapitre 5)

Les sources de contamination

Les sources à l'origine de la contamination sont nombreuses et variées. Les contaminations, comme indiqué dans la figure 1, peuvent provenir du personnel, du matériel utilisé, des matières premières et de l'environnement. Ces sources constituent aussi les axes de travail dans la lutte contre la contamination.

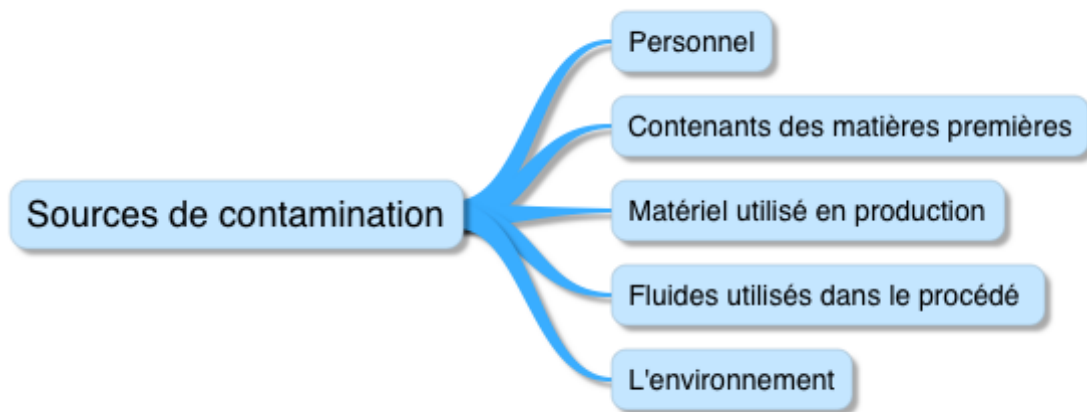


Figure 1 : Les sources de contamination

Le personnel

L'homme en bonne santé est colonisé par des milliards de micro-organismes. Installés en surface sur la peau, ils constituent la flore cutanée, à l'intérieur de notre organisme, ils sont localisés essentiellement dans l'appareil digestif et constituent la flore intestinale.

Les micro-organismes, en particulier les bactéries, sont très inégalement répartis sur la surface du corps humain. Les zones les moins contaminées portent quelques centaines de germes au cm^2 (avant-bras, thorax), les plus contaminées plusieurs centaines de milliers au cm^2 (aisselles, etc.). Quant à la flore intestinale dans la zone du côlon, 1 gramme de fèces peut renfermer plus de 10 milliards de bactéries.

Mise à part la flore fécale, la flore habituelle est constituée d'une grande majorité de germes dénués de tout caractère pathogène pour des individus en bonne santé. On trouvera les germes dangereux chez des personnes malades ou visiblement infectées, mais on pourra les trouver aussi chez un certain nombre d'individus sans pathologie apparente. Il s'agit de porteurs sains de germes pathogènes.

Les sources de contamination liées à l'homme sont :

Contamination par la peau, les mains

Notre peau se desquame totalement en l'espace de 48 heures. Les squames cutanées sont porteuses de germes. Un homme perd en moyenne 10 g de peau par jour. La contamination par les bactéries portées sur les mains est la plus fréquente. Ces bactéries de la paume des mains peuvent avoir plusieurs origines: naturelle, infectieuse ou en cas de recontamination.

Naturelle

Les peaux rugueuses, crevassées, sèches sont en général plus fortement chargées en bactéries que les peaux lisses et humides.

Infectieuse

Il s'agit d'infections cutanées tels que le panaris, la tourniole ou, plus simplement, d'une blessure (coupure par exemple) qui s'infecte et de fait libère les bactéries en cause.

recontamination

L'exemple le plus classique est celui de la contamination après passage aux toilettes par les bactéries fécales.

Contamination par les cheveux

Un être humain perd en moyenne par jour entre 20 et 60 cheveux en fonction des saisons de l'année. La probabilité pour le patient de retrouver des cheveux dans le médicament ou dans son conditionnement est donc élevée.

Contamination par la bouche, le pharynx

La cavité oropharyngée peut être une source importante de contamination.

Les émissions rhinopharyngées sont constituées de micro-gouttelettes de 5 à 100 microns de diamètre appelées gouttelettes de Flügge. Elles sont émises lors de la toux, de la parole et des éternuements.

Un simple éternuement entraîne la dissémination de 20.000 à 40.000 particules

Une minute de conversation libère 20.000 particules.

Contamination par les vêtements et les chaussures

Le tissu, de quelque nature qu'il soit, est un excellent support pour les bactéries.

Lorsqu'il est humide et imprégné de substances nutritives, il constitue un véritable milieu de culture où les micro-organismes se développent abondamment.

En général, les vêtements sont d'autant plus contaminés qu'ils auront été longtemps portés et se seront trouvés au contact d'une ambiance polluée. Leur flore est le reflet de la flore de l'individu et de celle de l'environnement. Les chaussures sont aussi porteuses de nombreux microorganismes. Une distinction doit être faite entre les chaussures de ville et les chaussures de travail. Les premières ne doivent jamais être introduites dans les ateliers de production.

Selon les BPF, toute personne pénétrant dans une zone de fabrication doit porter des vêtements protecteurs appropriés aux opérations qui s'y déroulent. Le respect des règles d'habillement (port d'une blouse, de chaussures de sécurité, de charlotte et de cache barbe en cas de besoin) permet d'une part de protéger les produits d'une possible contamination humaine mais aussi de réduire l'exposition du personnel à ces matières qui sont parfois toxiques.

Les contenants des matières premières

Les matières premières peuvent être source de contamination. La contamination peut provenir de la matière première elle-même du fait d'une contamination survenue lors de sa production ou lors de son transport par diffusion du contaminant, de la paroi du contenant vers le contenu. Lors de l'étape de pesée et de transfert des matières, des morceaux de contenants peuvent être incorporés dans la matière, essentiellement des morceaux de sachets plastiques ou papier. Des contenants adaptés doivent être utilisés pour sécuriser la matière rentrant dans la composition du médicament.

Le matériel utilisé en production

Le matériel utilisé aux différentes étapes de la production et qui entre directement en contact avec les matières peut être à l'origine d'une contamination en cas de réutilisation d'un matériel non nettoyé ou mal nettoyé. Une importance particulière doit être accordée au nettoyage des équipements de production.

Les fluides utilisés dans le procédé de fabrication

Les fluides comprennent :

- L'eau : eau utilisée au cours du procédé, eau de lavage, ...
- Les gaz : vapeur, air comprimé, ...
- Les liquides divers non considérés comme des matières premières

Les installations de distribution d'eau et de vapeur peuvent être le siège de proliférations microbiennes liées à une colonisation des installations par des bactéries et la présence de conditions de développement bactérien favorables. Pour remédier à ces situations, les Bonnes Pratiques de Fabrication(BPF) exigent « que les canalisations d'eau distillée ou désionisée et, lorsque cela s'avère nécessaire, les autres conduites d'eau doivent être désinfectées conformément à des procédures écrites ; celles-ci doivent préciser les seuils d'action en matière de contamination microbienne ainsi que les mesures à prendre.

En ce qui concerne l'air comprimé, sa qualité doit être maîtrisée d'autant plus qu'il est chargé en humidité donc susceptible de se condenser et ainsi de provoquer des corrosions et un développement de foyers microbiens. Les BPF recommandent que « les zones de production doivent être correctement ventilées par des installations de traitement d'air (température, humidité et le cas échéant filtration) adaptées à la fois aux produits manipulés, aux opérations effectuées et à l'environnement. »

De façon périodique, les circuits d'approvisionnement en fluides de production doivent être désinfectés et purgés et les maintenances préventives doivent être faites en temps opportun.

L'environnement

La production pharmaceutique doit se faire dans un environnement adapté, sécurisé et respectueux des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). Le chapitre 3 des BPF nous rappelle que « les locaux doivent être situés dans un environnement qui, tenant compte des mesures prises pour protéger la fabrication, ne présente pas de risque de contamination pour les produits. Les locaux doivent, aussi être de préférence disposés selon un ordre logique des opérations de fabrication effectuées et selon les niveaux de propreté requise. L'environnement de production doit être conçu, construit et équipé pour empêcher l'entrée de nuisibles tels que les rongeurs, les insectes et autres animaux. »

Pour remédier à la contamination les moyens de lutte employés sont le traitement préventif et le traitement curatif. La prévention de la contamination s'oriente autour de trois axes : Application des 5M en production, le management et la formation du personnel et la gestion des flux matières et personnel. Le nettoyage est le moyen curatif utilisé contre la contamination.

2. Prévention de la contamination

2.1. Application des 5M en production

La méthode 5M est une méthode d'analyse qui sert à rechercher et à représenter de manière synthétique les différentes causes possibles d'un problème. Elle fut créée par le professeur Kaoru Ishikawa d'où son appellation « Méthode d'Ishikawa ». La méthode d'Ishikawa utilise une représentation graphique (diagramme) en forme de poisson pour matérialiser de manière structurée le lien entre les causes et leurs effets.

On entend par 5M : **M**ain d'œuvre, **M**atériel, **M**atière, **M**éthodes, **M**ilieu

Dans les industries de santé pour identifier les difficultés qui sont rencontrées en production on applique la méthode des 5 M et les solutions adaptées sont trouvées. La figure 2 montre l'application de la méthode des 5M au sujet de la contamination.

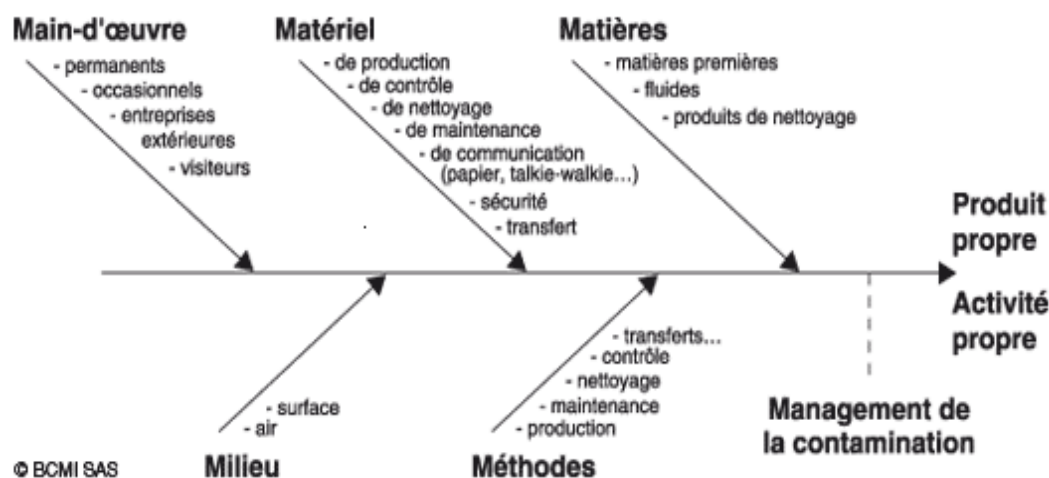


Figure 2 : Diagramme d'Ishikawa sur les sources de contamination²

Les bonnes pratiques de fabrication (BPF) reprennent les grands principes en rapport avec les 5 M à respecter pour garantir la qualité du médicament produit.

Le chapitre 2 des BPF aborde **le personnel** et précise que « la qualité de la fabrication du médicament repose sur l'ensemble du personnel. Pour cette raison, le fabricant doit disposer, sur chaque site de fabrication, d'un personnel qualifié et en nombre suffisant pour mener à bien toutes les tâches qui lui incombent. »

Le chapitre 3 des BPF s'intéresse aux **locaux et au matériel**. « Les locaux et le matériel doivent être situés, conçus, construits, adaptés et entretenus de façon à convenir au mieux aux opérations à effectuer. Leur plan, leur agencement, leur conception et leur utilisation doivent tendre à minimiser les risques d'erreurs et à permettre un nettoyage et un entretien efficaces 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. » Dans certains cas, un matériel dédié est associé à chaque produit toujours dans le but de réduire le risque de contamination croisée.

Le bon fonctionnement de la production repose sur l'application des bonnes **méthodes** de production, de nettoyage, de contrôle et de maintenance. Pour être appliquées et respectées, toutes les méthodes doivent être reprises dans la documentation. Le grand principe de l'assurance qualité en production, « Tout ce qui n'est pas tracé de manière écrite n'est pas considéré comme étant fait ». **Le chapitre 4** des BPF intitulé documentation nous explique que la mise en place d'un système documentaire fiable c'est à dire « des documents soigneusement conçus, préparés, revus et distribués » est « un élément essentiel du système d'assurance de la qualité »

Les matières premières sont rigoureusement identifiées et des mesures strictes doivent être mises en place pour réduire la contamination croisée lors de leur transfert ou de leur manipulation en production.

Aux 5M, on rajoute le management qui permet de prendre les décisions qui sont jugées bonnes pour le fonctionnement de la production. On parle de « 6 M ».

2.2. Formation et Hygiène du personnel

Formation

Le nouvel arrivant dans une entreprise doit bénéficier d'une formation initiale puis de rappels concernant les aspects théoriques et pratiques du concept d'assurance de la qualité et de Bonnes Pratiques de Fabrication. En plus de la formation aux BPF, il doit recevoir une formation appropriée aux tâches qu'il devra accomplir. La formation continue du nouvel arrivant fait l'objet d'un suivi par un parrain et d'une évaluation périodique par le hiérarchique. Les documents attestant que la formation a été dispensée doivent être scrupuleusement gardés et peuvent faire l'objet d'un audit.

Hygiène du personnel

Des règles d'hygiène drastiques doivent être appliquées par le personnel de l'entreprise pour réduire le risque de contamination des produits de santé. La direction doit fortement inciter le personnel au respect de ces règles. Les BPF reprennent au chapitre 2 quelques règles à respecter. Ces règles sont énumérées ci-dessous:

« - Les procédures doivent être comprises et observées de façon stricte par toute personne appelée à pénétrer dans les zones de fabrication et de contrôle.

- Dans les zones de production et de stockage, il doit être interdit de manger, de boire, de mâcher ou de fumer, ainsi que de garder de la nourriture, des boissons, du tabac ou des médicaments personnels. D'une façon générale, toute pratique non hygiénique doit être prohibée dans les zones de fabrication et dans toute zone où les produits pourraient en être affectés.

- Le contact direct entre les mains de l'opérateur et les produits non protégés doit être évité, de même qu'avec les éléments du matériel qui entrent en contact avec les produits.

-Le personnel doit être invité à utiliser les lavabos mis à sa disposition. Avant l'accès aux zones de production, le lavage des mains est obligatoire. »

2.3. Gestion des flux matières et personnels

Les flux de matières et de personnels doivent être distincts et maîtrisés. Il ne doit pas avoir de croisement de flux entre les matières premières et les produits finis. Des sas doivent être installés entre les vestiaires et les zones de production avec des gradients de pression croissants plus on avance vers les zones les plus sensibles afin de confiner les poussières de matières dans ces zones. Un système de filtration et de renouvellement de l'air doit être mis en place pour garantir la qualité de l'air en contact avec les matières.

3. Lutter contre la contamination : le nettoyage

3.1. Mécanisme du nettoyage³

Le nettoyage vise à éliminer le plus souvent à l'aide d'un détergent les souillures qui adhèrent sur un support. Le nettoyage est un ensemble complexe de mécanismes physiques et chimiques survenant entre les trois phases suivantes : surface, souillure, solution détergente.

Le nettoyage repose sur la théorie de la détergence qui fait appel aux mécanismes cités ci-dessous :

- **Le pouvoir mouillant et le décollement des souillures**

Le pouvoir mouillant de la solution détergente permet à l'aide des tensioactifs de combattre les interactions entre la souillure et la surface. Ces interactions sont les forces électrostatiques, les liaisons hydrogènes, les interactions de Van der Waals et les interactions hydrophobes. Les tensioactifs de la solution détergente augmentent l'angle de contact entre la solution et la surface. Les tensioactifs s'organisent en micelles autour des souillures qui sont alors solubilisées dans la solution et décollées de la surface.

- **Le mécanisme d'émulsification, de dispersion, de solubilisation**

Essentiellement utilisé pour les souillures de type organiques qui ont une forte affinité pour les tensioactifs. Les souillures sont alors fractionnées et émulsionnées ou solubilisées. (Cf. figure 3)

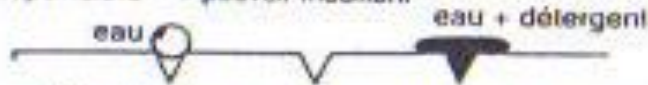
- **Le mécanisme pour éviter un nouveau dépôt de la souillure**

Après la formation des micelles, la surface qui est recouverte de tensioactifs et les micelles (tensioactifs et souillures) ont des charges de même signe ce qui provoque une répulsion entre la surface et les micelles et entre les micelles elles-mêmes.

Propriétés du détergent

Un détergent :

- diminue la tension superficielle → pouvoir mouillant



- assure une meilleure pénétration dans les fissures et facilite le décollement des saletés
- solubilise les protéines,
- émulsionne les huiles et les graisses,
- disperse les poussières,
- évite la redéposition des saletés

Mode d'action du détergent

Schéma d'une molécule de détergent :

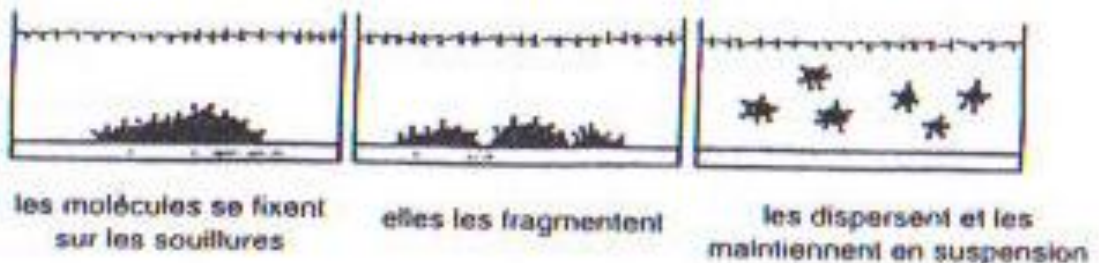


Figure3 : la théorie de la détergence⁴

Figure extraite de l'article « validation des procédés de nettoyage, rapport d'une commission SFSTP⁴

3.2. Paramètres influençant le nettoyage³

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

-l'action chimique

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

- l'action mécanique

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

-l' action de la température

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

-l' action du temps

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

L'action combinée de ces quatre facteurs est appelée le « cercle de Sinner », représenté sur la figure 5.

L'efficacité du nettoyage dépend de l'équilibre entre les 4 facteurs. Si pour une raison particulière, il faut diminuer la proportion de l'un des facteurs, il faudra compenser en augmentant la proportion d'un des trois autres facteurs pour conserver une efficacité du nettoyage.

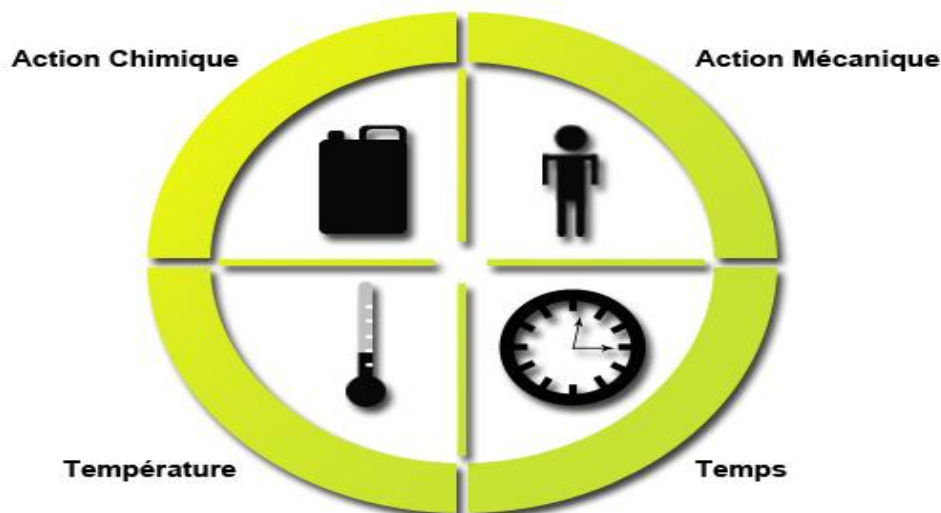


Figure 5 : Le cercle de Sinner⁵

3.3. Les méthodes de nettoyage existantes^{6, 7}

Si possible le nettoyage à l'eau est retenu. Malheureusement, il est peu applicable et nécessite la mise en œuvre d'un détergent. L'emploi du détergent doit être fait en veillant à adapter les doses pour atteindre le niveau de propreté souhaitée pour l'équipement tout en respectant les normes fixées pour le rejet des eaux polluantes. De nos jours il existe trois méthodes de nettoyage dont l'utilisation dépend de la configuration de l'équipement. Avec l'évolution des technologies, on tend vers une automatisation du nettoyage mais certains équipements nécessitent encore malheureusement un nettoyage manuel.

Le nettoyage manuel : Il est réalisé dans une laverie par un opérateur formé et habilité à ce nettoyage après le démontage des équipements. L'opérateur exerce une action mécanique et effectue le nettoyage à l'aide d'outils validés et de produits chimiques tels que les détergents. C'est sans doute le nettoyage le plus critique car il dépend de l'opérateur. Le réglage des différents paramètres est effectué par l'opérateur. Le résultat du nettoyage est conditionné par le respect du mode opératoire établi dans les procédures de nettoyage. Ce mode de nettoyage a pour avantage de permettre de cibler les zones critiques à nettoyer mais sa reproductibilité n'est pas garantie car elle dépend des opérateurs.

Le nettoyage semi-automatique : C'est un enchaînement d'opérations manuelles et automatiques qui ont pour but de nettoyer l'équipement. L'intervention humaine est limitée dans ce type de nettoyage à quelques opérations non réalisables automatiquement comme la préparation de la solution détergente à la bonne concentration ou le nettoyage de certaines pièces. Ce type de nettoyage est aussi appelé Wash In Place (WIP).

Le nettoyage automatique ou nettoyage en place (NEP) : Opération qui consiste à nettoyer un équipement, sans démontage préalable, par aspersion ou circulation de fluide. L'opérateur n'intervient pas dans ce type de nettoyage mais il surveille le bon déroulement du nettoyage et vérifie les données brutes enregistrées. Le terme de Clean In Place (CIP) est couramment employé pour désigner ce type de nettoyage.

Les méthodes de nettoyage automatisées se basent sur l'utilisation des techniques d'aspersion (pression par les fluides circulants) et d'ultrasons (alternance de surpression et de dépression) bien qu'elles soient innovantes, ces méthodes requièrent des installations lourdes et sont coûteuses dans l'utilisation au quotidien et également en termes de maintenance.

Le tableau 1 présente une comparaison des méthodes de nettoyage manuel et automatique qui tient compte des paramètres du cercle de Sinner.

Paramètres	Nettoyage Manuel	Nettoyage Automatique
Temps	♦ Temps faible quelque soit le type de surface à nettoyer ♦ Temps de latence entre les différentes étapes peut varier énormément	♦ Temps relativement élevé ♦ Temps de latence entre les différentes étapes mieux contrôlé
Force ou Action mécanique	♦ Force relativement élevée ♦ Très difficile à quantifier ♦ Non uniforme	♦ Force relativement faible ♦ Difficile à quantifier ♦ Plus uniforme
Concentration	♦ Faibles concentrations dues aux risques du personnel ♦ Détergent faiblement toxique	♦ Concentration et composition chimique beaucoup plus agressives ♦ Formules acides ou alcalines faiblement moussantes
Température	♦ Typiquement faible ♦ Variations avec les conditions ambiantes	♦ Température plus élevée ♦ Meilleurs contrôles et régulations

Tableau 1 : Tableau comparatif des méthodes de nettoyage manuel/automatique⁶

3.4. Les agents de nettoyage

Un détergent doit pouvoir éliminer d'une surface les souillures, les fibres et les particules afin d'obtenir une propreté visuelle.

Le choix d'un détergent se fait en fonction :

-de **la nature et de l'aspect de la souillure** (lipides, protéines, glucides, minérale ; fraîche, sèche) et de **la forme galénique**. (cf. figure 6)

-de **la nature du support** (acier inoxydable, métaux, plastiques, caoutchouc...). Le détergent ne doit pas être agressif vis à vis de la surface à nettoyer. La compatibilité du détergent avec les surfaces à nettoyer doit être vérifiée. Il existe des tableaux de référence qui permettent de vérifier la compatibilité entre le matériau et le détergent. Pour un matériau non référencé ou en cas de doute, des essais de compatibilité peuvent être faits.

-des **caractéristiques de l'eau**. L'eau joue un grand rôle dans le nettoyage car elle est utilisée comme agent de dilution et de rinçage. Sa qualité bactériologique doit être maîtrisée et des contrôles microbiologiques doivent être effectués régulièrement pour éviter qu'elle ne soit source de contamination. Le détergent doit être facilement soluble dans l'eau et tous ses composants doivent être facilement rinçables. La dureté de l'eau rentre aussi en jeu pour l'efficacité du détergent.

-des **conditions de nettoyage** (manuel, automatique, température d'application, temps de contact). Pour un nettoyage manuel, les produits peu moussants seront privilégiés.

La préparation de la solution diluée de détergent doit être faite si possible extemporanément. Dans le cas contraire, la durée de stabilité de la solution diluée doit être déterminée et validée, dans les conditions définies. Au-delà de la période validée, la solution doit être renouvelée. D'autres critères sont pris en considération pour choisir l'agent de nettoyage. Il doit être biodégradable et correspondre à la législation sur les rejets. Les coûts liés à la mise en œuvre du détergent doivent restés raisonnables.⁸

La majorité des détergents sont constitués de deux catégories de produits, dans les proportions suivantes :

80 à 95% de sels minéraux (acides ou alcalins) et 5 à 20% de constituants organiques (tensioactif, dispersant, séquestrant, chélatant). Les détergents sont classés en deux catégories : les alcalins et les acides³

Les détergents alcalins

Ils sont majoritairement utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Ce sont des produits contenant des bases ou des sels minéraux alcalins avec un pH supérieur à 10. Ils agissent sur les souillures en modifiant les caractéristiques physiques du dépôt ce qui augmente la solubilité et l'hydratation du dépôt et facilite son élimination. Ils sont adaptés pour les souillures organiques (matières grasses...). L'action combinée avec des tensioactifs qui abaissent les tensions superficielles de l'eau, améliore leur pouvoir de détergence. Les produits plus caustiques seront utilisés pour les nettoyages automatisés, dans le cas d'un nettoyage manuel on emploiera des produits plus faibles. Les plus utilisés contiennent de **l'hydroxyde de sodium, de l'hydroxyde de potassium ou des carbonates de potassium**.

Les détergents acides

Leur pH est inférieur à 4 et ils sont préconisés pour des souillures de nature minérale. Ils agissent par leur pouvoir de dissolution sur les dépôts minéraux. Ils peuvent être plus ou moins corrosifs en fonction des concentrations utilisées et nécessitent des précautions lors de la manipulation. Les plus utilisés contiennent de **l'acide phosphorique, de l'acide nitrique ou l'acide chlorhydrique dilué**.

Dans la composition des détergents on rajoute des tensioactifs, des produits séquestrants ou chélatants. Ces produits sont soit utilisés seuls, dilués dans l'eau pour les souillures hydrosolubles ou soit introduits dans les solutions détergentes acides ou basiques pour améliorer leur action.

Les tensioactifs ont une structure amphiphile avec une partie lipophile et une partie hydrophile. Cette structure leur confère des propriétés différentes en fonction de la proportion de chaque partie. Le rôle essentiel d'un tensioactif est de diminuer la tension superficielle de l'eau en créant des structures micellaires autour de la souillure. Les propriétés des tensioactifs exploitées pour de la détergence sont les suivantes : mouillantes, émulsionnantes, solubilisantes, détergentes

On distingue les tensioactifs anioniques, cationiques et amphotères des tensioactifs ne s'ionisant pas dans l'eau, les tensioactifs dits « non ioniques ».

Les familles de TA	description	Mode d'action propriétés
TA anioniques	Partie lipophile volumineuse Tête hydrophile chargée -	Action en milieu alcalin Incompatibles avec les cationiques Propriétés détergente, mouillante, moussante, émulsionnante
TA cationiques	Partie lipophile volumineuse Tête hydrophile chargée +	Action en milieu acide Incompatibles avec les anioniques Détergent, bactéricide
TA amphotères	Combinaison des caractères anionique et cationique s'exprimant en fonction du pH	Action en milieu acide et alcalin Détergent, moussant, bactéricide
TA non ioniques	liaison ester, éther ou amide.	Ils sont hydrophiles ou lipophiles en fonction de l'importance des parties

Tableau 2 : Les différents types de tensioactifs

Les séquestrants ou les chélatants sont souvent introduits dans les détergents pour éviter la formation des dépôts minéraux. L'efficacité d'un détergent dépend de la qualité de l'eau. Ils sont souvent utilisés pour les eaux dures qui ont tendance à être chargées en minéraux. Les plus utilisés sont l'EDTA Ethylène Diamine Tétracétique et les phosphonates. Th représente le titre hydrotimétrique, unité utilisée pour exprimer la dureté de l'eau et qui représente sa teneur en ions calcium et magnésium. Pour une meilleure action du détergent, la dureté de l'eau de dilution doit être comprise entre 5 et 15 °Th. (la valeur optimale étant de 8°Th). Au-delà de 10°Th, l'eau est considérée comme dure.⁸

Pour une action antibactérienne, on pourra ajouter dans la composition du détergent un produit à propriétés désinfectantes telles que les composés chlorés, les biguanides ou les alcools.

Des exemples de détergents utilisés par les laboratoires pharmaceutiques pour le nettoyage sont : le Teepol, l'Anios détergent 175, le Kophanios SP 2, HAMO liquid 55.

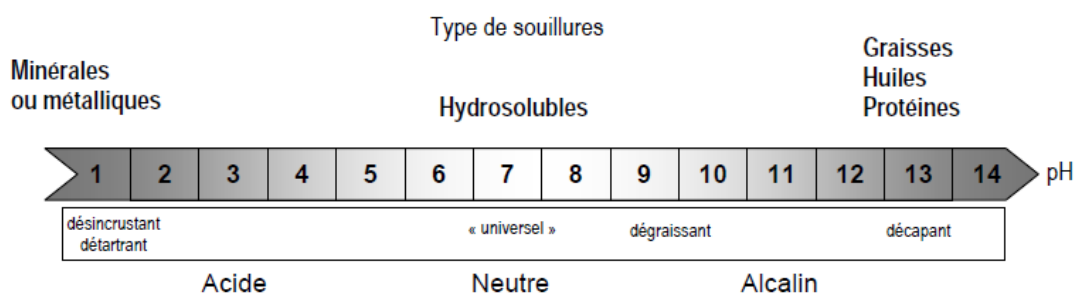


Figure 6 : Choix du détergent en fonction de la souillure^{7,9}

3.5. Traçabilité du nettoyage

L'opération de nettoyage étant considérée comme une des étapes du processus de fabrication d'un médicament, elle est aussi soumise à la traçabilité.

La traçabilité de cette opération dans les entreprises pharmaceutiques se fait à l'aide de documents tels que le cahier de route ou le cahier de nettoyage. Mais une traçabilité est aussi faite au travers du dossier de lot, où l'on rajoute un formulaire de nettoyage qui décrit les étapes de nettoyage et garantit ou non la conformité du nettoyage.

Partie II : La Validation de nettoyage

1. Contexte qualité

1.1. Définition

Pourquoi traiter le sujet du nettoyage et de sa validation ? Il faut savoir que le nettoyage est en relation avec 40 % des « lettres d'avertissement » (warnings letters) émises par la FDA. La validation des méthodes de nettoyage est le seul moyen dont dispose les entreprises pour prouver que les étapes de nettoyage des équipements sont maîtrisées.

Selon les BPF, « la validation de nettoyage consiste à établir la preuve documentée qu'une procédure de nettoyage approuvée fournira des équipements adaptés à la fabrication des médicaments. »

Pour mieux comprendre la validation de nettoyage, il faut aborder les concepts de validation et de qualification.

1.2. Généralités

La **validation** a pour but de prouver scientifiquement qu'un procédé fonctionne avec les éléments mis en place, conformément aux intentions conceptuelles. La validation s'applique aux procédés. La **qualification** est un préalable à la validation et porte sur le matériel. Qualifier un matériel, consiste à apporter la preuve que celui-ci est installé et fonctionne de manière reproductible, conformément à des spécifications préétablies. Le terme de validation est classiquement utilisé pour le procédé et le matériel.

Les concepts de qualification et de validation représentent des piliers de l'assurance qualité. Ce sont des exigences réglementaires. L'intérêt de qualifier des équipements ou de valider des procédés est de mener une étude technique qui permet d'améliorer la connaissance des équipements ou du procédé par les utilisateurs mais aussi d'avoir la certitude d'une maîtrise des équipements ou du procédé en fonctionnement de routine et en cas de dérive. Valider ou qualifier permettent d'avoir une meilleure vision sur la maintenance préventive future de l'équipement et surtout de prévoir et de réduire au maximum les surcoûts liés aux événements imprévisibles (pannes, rejets, retraitements, tests répétitifs...).

La validation repose sur la documentation. Le document indispensable pour la mise en place d'un projet de validation c'est le plan directeur de validation.¹⁰ C'est un document maître rédigé par un comité de personnes impliquées dans la validation et qui constitue le cahier des charges à respecter pour mener à bien la validation. Ce document reprend un descriptif complet de l'installation à valider en décrivant les équipements à qualifier et le procédé à valider. Il présente les moyens mis en œuvre pour prouver la fiabilité de l'installation, du procédé, des modes opératoires et des méthodes de validation. Il présente également l'architecture du système documentaire mis en place. Les personnes impliquées dans la rédaction du plan directeur de validation et dans la réalisation de la validation sont citées dans ce document.

Les avantages à débiter une validation avec un plan de validation sont nombreux. Le plan de validation permet d'avoir des repères, de définir un cadre à la validation .Il permet de planifier les différentes étapes nécessaires à la validation et d'ajuster ou corriger le déroulement de la validation en fonction des observations et des critiques. De par sa richesse en informations sur le plan technique et logistique, il permet de convaincre la direction du bien-fondé de la validation et ainsi obtenir les financements nécessaires pour le projet. Il est un élément de synthèse documentaire de l'assurance qualité qui peut être inspecté par les autorités de santé. Il peut servir à la formation des personnes qui ne sont pas directement impliquées et pour les services concernés, c'est un document de travail, un fil conducteur qui est appelé à évoluer au fil de la validation.

Le tableau ci-dessous présente les avantages et les inconvénients de la validation.

Avantages d'une validation	Inconvénients d'une validation
- Réduire les coûts liés aux évènements de non qualité - Garantir la qualité et la sécurité - Conformité aux exigences réglementaires - Challenger son système pour garantir la rentabilité - Réduire les pannes, les arrêts machine injustifiés - Peu de lots non conformes - Améliorer l'efficacité des opérations de production et de nettoyage	- Coûts liés à la mise en place et la réalisation de la validation - Besoin en main d'œuvre - Le temps consacré à la validation - Equipements inadaptés

Tableau 3 : Avantages et inconvénients d'une validation¹¹

1.3. Place de la validation de nettoyage dans le système qualité

La validation de nettoyage fait partie intégrante des processus d'assurance de qualité et s'inscrit dans la démarche de maîtrise des procédés et des systèmes au même titre que la validation des procédés ou la qualification des équipements.

2. Une exigence réglementaire

2.1. Historique

La validation de nettoyage s'est progressivement imposée au fil du temps aux industriels comme le moyen pour la maîtrise des contaminations et notamment de la contamination croisée.

Les premiers incidents de contamination croisée sont apparus aux Etats Unis et ont incité la FDA à mener une réflexion sur le sujet et à renforcer ses exigences en matière de maîtrise de la contamination. En 1963, dans le premier guide GMP, il était déjà indiqué « qu'il était nécessaire de maintenir le matériel propre et rangé. » Le fait déterminant dans l'évolution des textes réglementaires aux Etats Unis est le rappel d'un lot de Cholestyramine Resine USP en 1988, suite à la découverte d'une contamination pendant la production par un pesticide.¹²

Selon l'enquête, le principe actif a été contaminé par de faibles doses de produits intermédiaires et de produits de dégradation obtenus lors de la production de pesticides utilisés en agriculture.

Comment des produits pharmaceutiques et des pesticides ont-ils pu être en contact ?

Des cuves ont été employées pour le stockage des solvants récupérés lors de la production des pesticides. Ces mêmes cuves, sans nettoyage préalable, ont été utilisées pour la récupération des solvants issus de la fabrication du principe actif. La réutilisation des solvants stockés dans ces cuves au cours d'une production, a entraîné la contamination croisée du principe actif par les pesticides. L'entreprise ne possédait pas à l'époque, de méthodes de contrôle de la propreté des cuves contenant les solvants, ni de méthodes de nettoyage validées pour les cuves.

Les lots de principe actif contaminés ont été livrés à une entreprise en charge de la fabrication du produit fini, la résine cholestyramine USP. Lors de leur manipulation, ces lots de principe actifs ont contaminé les appareils de séchage à lit d'air fluidisé ce qui a eu pour conséquence la contamination des lots produits par la suite avec ces mêmes équipements.

La FDA a aussi œuvré pour l'utilisation d'unités de production séparées pour les produits tels que les pénicillines, les hormones notamment les stéroïdes hautement actifs et les produits à forte toxicité (anticancéreux). De nombreux lots ont aussi été rappelés par le passé à cause d'une contamination croisée avec des pénicillines.

En 1993, à la suite de ces constats la FDA publie le « Guide to inspections of cleaning validation processes »¹², un guide à l'usage de ses inspecteurs, spécifiquement axé sur le nettoyage et décrivant les grandes lignes d'une démarche de validation.

Ce guide a permis:

- d'aider les industries pharmaceutiques dans leur démarche de validation du nettoyage en prodiguant des conseils pratiques,
- de conduire à une harmonisation entre industries en comblant les disparités,
- d'atteindre les taux de contaminants acceptables.

2.2. Les différents guides, points communs¹³

▪ En Europe

Les GMP Européennes ou « Good Manufacturing Practices » sont accessibles sur le site EUDRALEX qui traite de la législation des médicaments en Europe. Le volume 4 “Guidelines for good manufacturing practices for medicinal products for human and veterinary use” dans l’annexe 15, “Qualification and validation”, traite de la validation de nettoyage.¹⁵

En France, Les BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication) dont la première version date 1978, sont utilisées comme référentiel lors des évaluations des autorisations d’ouverture ou en cas d’inspection des sites industriels. Les industriels doivent être totalement en conformité avec les BPF, qui sont un texte juridiquement opposable. La nouvelle version des BPF qui a été éditée par l’AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé), date de juillet 2011. Les BPF françaises sont une transposition en droit français des GMP européennes. La seule différence entre les BPF françaises et les GMP européennes se situe au niveau de la personne qualifiée pour la libération des lots, qui en France est obligatoirement un pharmacien. La ligne directrice 15 des BPF intitulée « Qualification et validation » aborde la validation de nettoyage.¹⁴

▪ Aux Etats Unis¹⁶

Les Etats Unis sont les précurseurs sur le sujet de la validation des procédés de nettoyage. La FDA émet des recommandations au travers du CFR « code of federal regulations ». La partie 211 du code CFR intitulée « CURRENT GOOD MANUFACTURING PRACTICE FOR FINISHED PHARMACEUTICALS » correspond aux bonnes pratiques de fabrication américaines pour les médicaments. La version actuelle a été publiée en avril 2010.¹⁷

Dans la sous partie D « équipement » au paragraphe 211.67 « Equipment cleaning and maintenance », on retrouve la phrase suivante qui rappelle l’importance du nettoyage “(a) Equipment and utensils shall be cleaned, maintained, and, as appropriate for the nature of the drug, sanitized and/or sterilized at appropriate intervals to prevent malfunctions or contamination that would alter the safety, identity, strength, quality, or purity of the drug product beyond the official or other established requirements.”

Dont la traduction est la suivante:

Les équipements et les ustensiles doivent être nettoyés et entretenus avec une fréquence appropriée pour éviter les contaminations ou les dysfonctionnements qui pourraient altérer la sécurité, la nature, la puissance, la qualité ou la pureté du médicament (...)

- Autres référentiels^{18, 19}

PIC/S

PIC Pharmaceutical Inspection Convention est une organisation qui a été fondée en 1970. Depuis, cette organisation a évolué avec la création de PIC scheme Pharmaceutical inspection cooperation scheme PIC/S. Cette organisation rassemble les inspecteurs, représentants les agences nationales des pays membres du PIC/S. Le but de PIC/S est d'agir en faveur de la santé publique en augmentant la coopération et les échanges entre les différents pays pour les inspections.

PIC/S a modifié la version des GMP PIC/S en 2009 avec en annexe 15, le chapitre qui traite des qualifications et des validations.

OMS

L'OMS ou Organisation Mondiale de la Santé a publié ses premières GMP en 1969. Depuis ces GMP, ont évolué et sont prises comme référence partout dans le monde. Dans la version la plus récente de 2007, il y a un chapitre qui traite des validations et de la validation de nettoyage.

- Les points communs

Dans les différents référentiels, les exigences pour la validation de nettoyage sont les mêmes. Ces exigences sont résumées ci-dessous :

- Les opérations de nettoyage doivent être validées pour confirmer l'efficacité de la méthode. La validation des procédures de nettoyage se fait pour les équipements en contact avec le produit.

- Les méthodes analytiques pour la recherche des résidus doivent être validées avec une sensibilité et une limite de détection convenable.

- Des limites acceptables (pour les traces de résidus, de détergent) doivent être scientifiquement fixées et atteintes par la pratique.

- La méthode de nettoyage est mise en œuvre trois fois pour être validée.

- L'utilisation d'un placebo pour la validation est permis à titre exceptionnel si le produit est toxique ou facilement dégradé.

- La méthode du « test until clean » n'est pas autorisée comme alternative à la validation de nettoyage.

3. Préalables à la validation de nettoyage

3.1. Pré-validation

Qualifier un équipement permet de démontrer la reproductibilité du comportement d'un système et surtout de garantir qu'il est sécurisé pour le procédé. La qualification est l'une des étapes du projet pour la mise en place d'un équipement.

Le projet débute avec un **Cahier des Charges** ou URS (User Requirement Specification). Ce document est rédigé par l'utilisateur et définit clairement et précisément ce que l'utilisateur demande au système et permet de noter toute contrainte, ou toute spécification réglementaire ou de documentation. Après l'entreprise consulte plusieurs fournisseurs et choisit celui qui répond le plus à son besoin.

La qualification commence à ce moment avec l'étape de **Qualification de conception** qui consiste en une vérification documentée que la conception proposée des installations, systèmes et équipements convient aux usages auxquels ils sont destinés. Cette étape se passe chez le fournisseur qui fait un FAT (Fournisseur Acceptance Test) avant d'expédier l'équipement à l'entreprise. A réception, l'entreprise après l'installation de l'équipement à l'endroit prévu, fait un SAT (Site Acceptance Test). C'est une fiche de test qui est remplie et qui justifie par exemple que le système électrique fonctionne bien. La qualification sur site commence après ces étapes.

3.2. Qualification du matériel de production

La qualification sur site est déclinée en trois grandes étapes :

- Qualification d'installation (QI)
- Qualification opérationnelle (QO)
- Qualification de performance (QP)

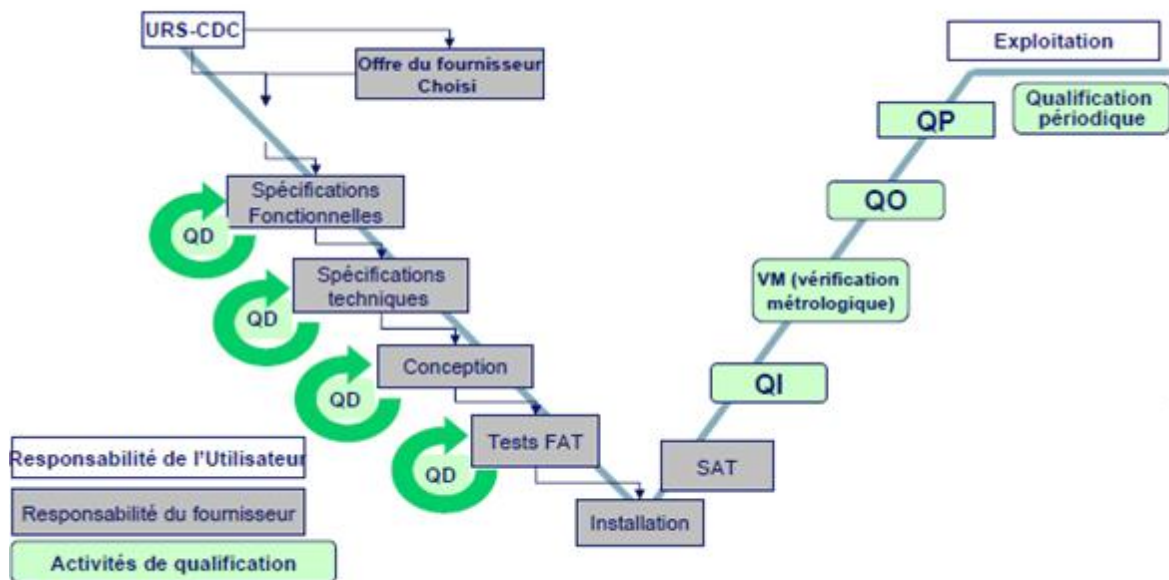
La qualification d'installation est une vérification documentée que les installations, systèmes et équipements, tels qu'ils ont été installés ou modifiés, sont conformes à la conception approuvée et aux recommandations du fabricant. Il s'agit d'une vérification statique qui se fait avec l'équipement qui n'est pas en fonctionnement.

La qualification opérationnelle est une vérification documentée que les installations, systèmes et équipements, tels qu'ils ont été installés ou modifiés, fonctionnent comme prévu sur toute la gamme d'exploitation. Il s'agit d'une vérification dynamique du fonctionnement mais en mode hors production.

La qualification de performance est une vérification documentée que les installations, systèmes et équipements, tels qu'ils ont été agencés, sont en mesure de fonctionner de manière efficace et reproductible, sur la base de la méthode opérationnelle approuvée et de la spécification du produit.

La qualification est donc une opération destinée à démontrer qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus, qui implique:

- la maîtrise du fonctionnement de l'équipement,
- l'identification de points critiques pouvant avoir une incidence sur le produit,
- la mise en place d'une maintenance préventive ciblée et efficace.



FAT : Fournisseur Acceptance Test

SAT : Site Acceptance Test

Figure 7 : Les étapes de qualification d'un équipement²⁴

L'équipement est alors qualifié. La figure ci-dessus reprend les étapes à respecter pour qualifier un équipement. Périodiquement, une nouvelle qualification est faite pour vérifier les performances de l'équipement. Pour une validation de nettoyage, il est indispensable de qualifier les équipements ou les locaux à nettoyer. 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.

3.3. Acteurs de la Validation de Nettoyage

Dans la réalisation d'une validation de nettoyage, de nombreux acteurs appartenant à différents départements du laboratoire pharmaceutique sont impliqués. Les services dont le rôle est fondamental sont l'assurance qualité, la production, la maintenance et le laboratoire de contrôle analytique et de microbiologie.

L'assurance qualité a un rôle central, elle est chargée de s'assurer du résultat produit avec l'installation. Elle s'occupe aussi d'approuver les modes opératoires de nettoyage, les protocoles et les rapports en lien avec la validation de nettoyage.

La production est l'unité qui accueille l'équipement et qui s'occupe du fonctionnement de l'équipement. Tout le service est impliqué du responsable aux opérateurs. Le rôle de l'unité de production est de regrouper la documentation de qualification des équipements, de créer, rédiger faire connaître et respecter les procédures de nettoyage, d'organiser le planning de production, de réaliser l'inspection visuelle après nettoyage. Elle rédige aussi les protocoles et les rapports en lien avec la validation de nettoyage.

La maintenance dans certaines entreprises, est chargée de faire les qualifications .Elle s'occupe aussi de la maintenance et de la réparation des équipements.

Le laboratoire de contrôle analytique et de microbiologie s'occupe de valider les méthodes de prélèvement et d'analyses des échantillons, de valider les modes opératoires de nettoyage. Il participe à la rédaction des protocoles et des rapports de validation en apportant ses informations.

3.4. Qualification du matériel de nettoyage et des agents de nettoyage⁸

Le matériel et les agents de nettoyage doivent être adaptés au nettoyage de l'équipement et ne doivent pas être une des causes de l'altération ou de la contamination de l'équipement.

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

Qualifier un agent de nettoyage, c'est prouver que cet agent est adapté au mode de nettoyage, qu'il n'altère pas la surface à nettoyer, ne génère ni ne transfère de contaminants.

Les fournisseurs en agents de nettoyage doivent être agréés par l'entreprise. Ils doivent disposer d'un système d'assurance qualité certifié. Ils doivent fournir la documentation nécessaire à l'entreprise concernant le produit de nettoyage et son utilisation. Les informations dont l'entreprise doit disposer sur les agents de nettoyage sont :

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

Le fournisseur doit garantir la constance de la qualité de l'agent de nettoyage.

3.5. Habilitation du personnel au nettoyage

Le personnel intervenant en production doit être impliqué dans le choix de la méthode de nettoyage. Une fois la méthode définitive élaborée, le personnel doit être formé à cette méthode et évalué. Chaque personne intervenant sur les équipements après la formation est alors habilitée au nettoyage et l'habilitation est tracée par un document interne. Des rappels de formation doivent être faits régulièrement surtout en cas de nettoyage manuel afin de garantir que tous les opérateurs appliquent la même méthode.

Le schéma ci-dessous reprend les points essentiels qu'il faut traiter avant de débuter une validation de nettoyage.



Figure 8 : Les pré requis pour la validation de nettoyage²⁰

4. Mise en place et déroulement²¹

Le principe d'une validation de nettoyage est de rechercher une fraction représentative de la contamination résiduelle d'un équipement par prélèvement suivi d'une analyse et de vérifier que le résultat est en dessous des limites d'acceptation. Au préalable, toute une stratégie de validation doit être mise en place. En fonction de l'activité du site, site mono produit ou site multi produit, les choix pour la stratégie de validation peuvent différer.

Un site mono produit validera la méthode de nettoyage en se basant sur le produit à nettoyer, le type d'équipements et les outils et produits de nettoyage utilisés. Il s'agit d'une **approche simplifiée** qui prend en compte un produit et un équipement pour avoir une seule méthode de nettoyage. Cette approche est aussi intéressante pour les sites multi produits fabricant peu de médicaments ou ayant des équipements dédiés.

Pour les autres sites multi produit, l'équation devient plus complexe, on ne peut pas valider toutes les configurations possibles (association produit/détergent), il faut faire des choix en adoptant une **approche matricielle**.

L'approche matricielle consiste en une approche scientifique reposant sur une analyse systématique et détaillée du risque qui permet de réduire les choix possibles et d'obtenir une validation de nettoyage satisfaisante.

L'objectif à atteindre au final, sur un site multi produit est la mise en place d'une méthode de nettoyage universelle pour une majorité de produits fabriqués sur le site en utilisant un nombre restreint de détergents différents.

4.1. Site multi produits

Le cas des sites multi produits est le plus compliqué. Il faut pouvoir s'assurer d'être dans les conditions les plus critiques pour justifier l'approche matricielle. Le pire des cas ou worst case est déterminé en se basant sur une analyse matricielle regroupant les équipements et les produits en jeu.

Dans un premier temps pour appliquer **la méthode de groupage** sur un site multi produit, il faut dresser **un tableau des produits fabriqués**, comportant les éléments suivants:

- Les produits fabriqués avec les formes galéniques associés, les compositions et les tailles de lot
- Les dosages des principes actifs (PA)
- Les solubilités des PA
- L'activité thérapeutique ou/et la toxicité des composés (DL 50, Dose maximale journalière...)
- L'aptitude au nettoyage des produits (échelle du plus simple (score = 4) au plus difficile à nettoyer (score = 1))

Il faut aussi avoir la liste des équipements utilisés, des méthodes et des agents de nettoyage utilisés. Le tableau 4 est un exemple du type de tableau à réaliser.

Produits	P.A.	Taille de lot En comprimés	Dosage de PA/comprimé (mg)	Solubilité dans l'eau PA (mg/ml)	DL50 (mg/kg)	« Néttoyabilité »
Produit A	W	3 000 000	25	0,14	907	2
Produit B	X	2 500 000	30	< 0,05	4000	1
Produit C	Y	650000	470	30	3730	4
Produit D	Z	4 000 000	7,5	50	840	3

Tableau 4 : Exemple de tableau représentant les critères des différents produits

Dans un deuxième temps, il faut constituer des matrices qui relient les équipements et les produits. Le tableau 5 montre un exemple de matrice. Ces matrices permettent de diminuer le nombre d'équipements à valider. Le choix des équipements retenus doit être justifié par des paramètres tels que la fréquence d'utilisation, la date de mise en service et le degré d'usure. Les équipements comparés sont des équipements semblables. (Par exemple, plusieurs granulateurs de marques différentes)

Produits	Equipement 1	Equipement 2	Equipement 3	Equipement 4	Equipement 5
Produit A	x		x		x
Produit B	x	x			x
Produit C	x		x	x	x
Produit D		x		x	x

Tableau 5 : groupage produits/équipements

Dans cet exemple, il serait plus pertinent de faire la validation sur l'équipement 5 car il est utilisé pour tous les produits.

A ce niveau, il reste encore de nombreux produits qui pourraient être validés. On déterminera le produit worst case en prenant en compte le critère de nettoyabilité, c'est-à-dire le produit le plus difficile à nettoyer. Une échelle de nettoyabilité est établie et permet de classer les produits du plus facile à nettoyer au plus difficile. On se base aussi sur les critères de concentration dans la forme galénique et de solubilité dans le solvant de nettoyage. Un autre critère à prendre en compte aussi est la notion d'activité thérapeutique pour un PA ou de toxicité pour un excipient.

Suivant la nature du traceur retenu, le facteur pris en compte peut différer :

-soit le traceur est un principe actif : dans ce cas, on prend en compte la valeur de la dose thérapeutique minimale (DTmin exprimée en mg), après avoir vérifié que le facteur toxicité n'est pas plus défavorable,

-soit il s'agit d'un composant sans activité thérapeutique (un excipient) et on fait intervenir la notion de toxicologie de NOEL (No Observed Effect Level exprimé en mg/kg)

$$\text{NOEL} = \text{DL } 50 \times 5 \times 10^{-4} \text{ en mg/kg}$$

DL 50 : la dose létale 50 est la dose qui provoque la disparition de la moitié de la population animale suite à l'ingestion du composé.

La valeur de NOEL peut être multipliée par le poids moyen d'un adulte (70kg) pour avoir une valeur exprimée en mg. La comparaison est alors possible avec la dose thérapeutique minimale.

En reprenant l'exemple présenté dans le tableau 4, les critères permettent de sélectionner le produit B comme étant le cas le plus défavorable.

Au final, on doit pouvoir déterminer un produit worst case et son principe actif sera utilisé comme traceur. Toute la démarche de sélection du worst case doit être justifiée. Le tableau 6 reprend les avantages et les inconvénients de la méthode de groupage.

Avantages	Inconvénients
-Nombre d'essais réduits aux « pire des cas » pour la validation de nettoyage -Harmoniser/uniformiser les procédés de nettoyage -Réduire le nombre de méthodes analytiques à valider -Possibilité d'insérer de nouveau produit sans refaire toute une validation surtout si ce n'est pas un pire cas -Gain de temps et d'argent	-Faire du surnettoyage dans certains cas -Difficulté de regrouper les équipements

Tableau 6 : Avantages et inconvénients des méthodes de groupage²¹

4.2. Site mono produit

Sur un site mono produit, l'approche est plus simple. Les équipements similaires peuvent être regroupés et la validation de nettoyage ne peut être effectuée que sur celui qui est jugée le plus critique. Le choix de l'équipement à valider se fait en prenant en compte l'accessibilité, la conception, la fonction, le mode de fonctionnement, la forme et les matériaux utilisés.

4.3. Critères d'acceptation²²

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

4.3.1 Critère du Visuellement propre

Avant que les études de validation de nettoyage ne soient mises en place, la méthode du visuellement était la seule méthode existante. Elle est toujours utilisée aujourd'hui mais elle est intégrée dans les programmes de validation de nettoyage. Qu'est-ce que le visuellement propre ? Il se définit comme l'obtention d'un équipement exempt de traces repérables à l'œil nu après le nettoyage. Selon Fourman et Mullen, la plupart des substances seraient visibles à raison d'environ 100µg/25cm² de surface nettoyée soit **4 µg/cm²**, en tenant compte des conditions d'observation.

L'inspection visuelle est fortement dépendante de l'acuité visuelle de l'opérateur. Elle nécessite une formation pour savoir ce qu'il faut observer. L'éclairage de la pièce où a lieu l'inspection, les ombres dues à la configuration de l'équipement mais aussi la distance et l'angle d'observation de l'opérateur par rapport à l'équipement ont leur importance. Jenkins et Vandervielen auraient observé des résidus en dessous de la limite de 1µg/cm² à l'aide d'une source d'éclairage.

Mendenhall en 1989 et Leblanc un peu plus tardivement ont exploré la possibilité de faire de l'inspection visuelle le seul critère d'acceptation pour une validation de nettoyage.

La FDA dans le "guide to inspection of validation of cleaning processes " considère que le critère d'acceptation basé sur l'inspection visuelle peut être acceptable uniquement dans le cas d'un nettoyage inter lots pour un même produit.

En pratique, l'inspection visuelle est utilisée en routine (pour tous les nettoyages de production) et dans le cadre des autoinspections de nettoyage. L'inspection visuelle constitue aussi une étape dans les démarches de validation de nettoyage. Tant que le visuellement propre n'est pas atteint, les prélèvements de la validation de nettoyage ne sont pas réalisés.

4.3.2 Critère de 10 ppm

Le critère de 10 ppm est un critère empirique qui découle des limites de détection des méthodes analytiques .Il signifie qu'on ne doit pas retrouver plus de 10 parties d'un produit A dans un million de parties d'un produit B, autrement dit on ne doit pas avoir plus de 10mg de A dans 1 kg de B. Il est exprimé en mg.

Le calcul de la limite résiduelle acceptable (L.R.A) pour la surface SE (Surface Etudiée) selon le critère de 10 ppm se fait comme suit :

$$\frac{10 \text{ (mg/kg)} \times \text{Taille de B (kg)} \times \text{SE (cm}^2\text{)}}{\text{ST (cm}^2\text{)}}$$

SE = Surface de l'équipement étudiée en cm²

ST = Surface Totale de l'équipement en cm²

4.3.3 Critère du millième

Ce critère est basé sur le risque de retrouver une concentration de la dose pharmacologiquement active du produit A dans la prise thérapeutique journalière de B. Pour être dans le cas le plus défavorable, on choisit de diviser la plus petite dose pharmacologiquement active de A par 1000 (Facteur de sécurité) et on choisit le nombre maximum d'unités de B pris par jour. B étant le produit avec la plus grande posologie maximale journalière. Ce risque est calculé en fonction de la taille de lot de B.

Plus le lot B suivant est grand en termes d'unité de prise, moins le risque de réunir la Dose Journalière Thérapeutique de A est grand. La quantité résiduelle de A admissible est alors plus grande.

Le risque évalué tient compte de la surface totale de l'équipement. Plus la surface totale augmente, plus le risque de contamination augmente et plus la quantité autorisée de A doit être petite.

Le calcul du critère du millième prend en compte soit la dose thérapeutique minimale pour un principe actif soit la DL 50 pour un excipient.

En pratique les formules de calcul des critères d'acceptation utilisées sont les suivantes :

Critère en fonction de la **dose thérapeutique minimale** :

$$L.R.A. = \frac{I}{J} \times K \times FS \times \frac{SE}{ST}$$

Avec :

I = Dose minimale thérapeutique du produit A
J = Posologie maximale journalière du produit B
K = Nombre d'unités par lot du produit B
FS = Facteur de sécurité (1/1000)
SE = Surface de l'équipement étudié en cm²
ST = Surface du train d'équipement en cm²

Critère en fonction de la **toxicité** :

$$L.R.A. = \frac{DL50 \times 5.10^{-4} \times 70}{J} \times K \times FS \times \frac{S_E}{S_T}$$

DL50 = Donnée toxicologique exprimée en mg/kj/j du produit A ou du produit le plus toxique (worst case)

70 = poids moyen d'un homme adulte en kg

J = Posologie maximale journalière du produit B

K = Nombre d'unités par lot du produit B

FS = Facteur de sécurité (1/1000)

SE = Surface de l'équipement étudié en cm²

ST = Surface du train d'équipement en cm²

4.3.4 Choix du critère d'acceptation le mieux adapté

Le critère d'acceptation choisi est celui qui correspond à la plus petite valeur calculée obtenue avec les formules de calcul utilisées, ce qui permet de se mettre dans les conditions les plus défavorables.

4.4. Points de prélèvement²³

4.4.1 Classement par criticité

Avant de débiter toute validation, il faut établir la liste des équipements utilisés puis évaluer la surface du train d'équipements. Les surfaces à considérer sont celles qui entrent en contact avec le produit. Une fois l'équipement à valider déterminé, il faut définir des points critiques.

Un point critique est défini comme une zone ou un 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).⁴

Les points critiques de nettoyage sont généralement des zones à forte concentration de contaminants du fait de la géométrie de l'équipement (exemples : fond de cuve, vannes de vidanges, organes d'agitation), les zones difficiles à nettoyer ou d'accès difficile (flexibles d'aspiration, grilles, tamis) La détermination des points critiques reposent sur la logique ou sur l'expérience. Au fur et à mesure des essais de validation, les points critiques peuvent évoluer en fonction des résultats. Le nettoyage de chaque zone sera adapté à sa criticité. Le fait de se placer dans les conditions les plus défavorables permet de garantir lors de l'inspection que si les zones les plus critiques sont propres alors les zones les moins critiques le sont aussi.

Le choix des points de prélèvement doit être corrélé aux zones critiques déterminées sur l'équipement.

4.4.2 Nombre de points de prélèvement

Le nombre de points de prélèvement est choisi en fonction de la surface totale de l'équipement, du design, de la forme, du mode de fonctionnement et des matériaux de construction de l'équipement. On réalise un plan d'échantillonnage. L'homogénéité de la répartition des contaminants à la surface de l'équipement n'est pas garantie donc il faut réaliser plusieurs prélèvements. La pratique courante est de réaliser au minimum trois échantillons par point de prélèvement.

4.5. Choix du matériel de prélèvement

Le matériel de prélèvement doit être adapté à la surface à prélever. Il ne doit pas provoquer d'interférence avec la surface à nettoyer ou avec le produit. Il ne doit pas être abrasif pour la surface de l'équipement, ni relarguer des contaminants sur l'équipement. Le laboratoire doit mener une étude en partenariat avec les fabricants de matériel de nettoyage pour déterminer quel support convient pour les prélèvements. En fonction du support, Il faut déterminer le rendement de

prélèvement. On peut utiliser une variété de matériel de prélèvements tels que les swabs (tissu pour essuyage), les écouvillons. Ce matériel peut être fait de fibres telles que la cellulose, le polyuréthane ou le polypropylène.

La réussite de l'étape de prélèvement repose essentiellement sur un plan d'échantillonnage bien élaboré et sur le respect à la lettre du protocole de prélèvement.

4.6. Les méthodes de prélèvement

Il existe deux grands types de prélèvements : les prélèvements directs et les prélèvements indirects.

4.6.1 Méthodes directes

Les prélèvements directs sont réalisés sur une surface de nature et de taille définie et par contact direct avec l'équipement. On distingue trois méthodes : la méthode par contact, par essuyage et par écouvillonnage. Ces méthodes peuvent être menées à sec ou en imprégnation par un solvant.

La méthode par contact

Cette méthode est utilisée souvent en microbiologie. On utilise des boîtes contact qui sont appliquées sur la surface de l'équipement et qui sont ensuite mises en culture ce qui permet l'identification des germes. Ces boîtes contact sont constituées d'un milieu gélosée.

La méthode par écouvillonnage

Elle est aussi utilisée en microbiologie et emploie des écouvillons qui sont ensuite mis dans des milieux de culture favorables au développement des germes. L'intérêt de la méthode d'écouvillonnage c'est de pouvoir accéder aux zones à applications difficiles tels que les coins.

La méthode par essuyage ou swabbing

Cette méthode consiste à appliquer un swab (morceau de tissu) préalablement imprégné d'un solvant sur la surface à prélever pour récupérer les résidus restant après le nettoyage. La surface prélevée est de taille connue. Le swab est alors trempé dans un solvant où les résidus vont se solubiliser. La quantité de résidus par swab est alors déterminée par une méthode analytique appropriée. Les solvants les plus couramment utilisés sont l'eau ou l'éthanol.

Une technique particulière doit être appliquée pour l'essuyage. Elle est décrite dans la figure ci-dessous.

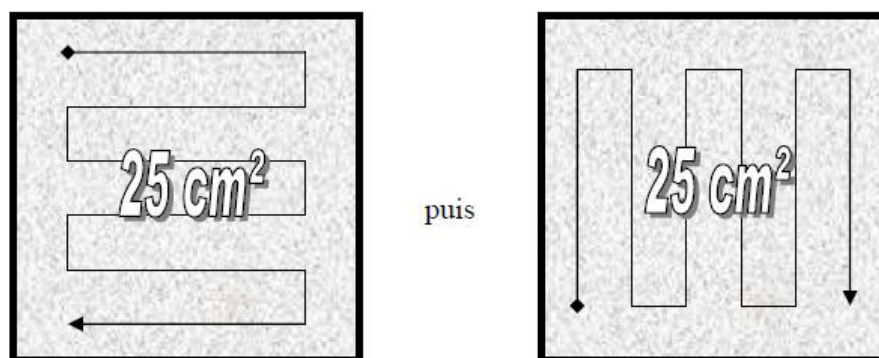


Figure 9 : Mise en œuvre du prélèvement par la méthode d'essuyage ou swabbing⁷

4.6.2 Méthodes indirectes

Les prélèvements indirects sont faits à l'aide de solution de rinçage. Les solutions de rinçage doivent permettre de solubiliser les résidus contaminants. Le volume de solution de rinçage récupéré par point de prélèvement doit être déterminé. La méthode par rinçage est toujours utilisée en complément d'une méthode directe pour la validation.

4.6.3 Avantages et inconvénients de ces méthodes

Ce tableau résume les avantages et les inconvénients des différentes méthodes de prélèvement.

	Avantages	Inconvénients
Méthodes directes	-Conformes aux exigences de la FDA et aux recommandations des GMP EU -Meilleure évaluation de la répartition de la contamination dans l'équipement -concentration de l'échantillon permet une détection plus facile pas les méthodes analytiques -applicables pour la recherche de substances actives, de microorganismes et de résidus d'agents de nettoyage.	- Méthodes invasives (relargage de fibres) - Difficulté d'extrapoler les résultats d'une petite surface prélevée à toute la surface en contact réel avec le produit - Méthode analytique lourde à valider - Difficile à réaliser sur le terrain

Méthodes indirectes	Prélèvement représentatif de l'ensemble des surfaces à prélever Adaptée si prélèvement direct impossible Adaptée pour la validation des machines difficile à démonter	Impossible de déterminer les contaminants restant sur l'équipement La zone contaminée n'est pas connue de façon précise Méthode insuffisante si employée toute seule pour la FDA
----------------------------	---	--

Tableau 7 : Avantages et inconvénients des méthodes de prélèvement²³

4.6.4 Placebo

La méthode de prélèvement placebo consiste à fabriquer un lot placebo (sans présence de traceur) et à faire des prélèvements pour rechercher le produit précédent. Le placebo doit avoir les mêmes caractéristiques que le produit qu'il remplace. Les placebos sont utilisés pour démontrer l'absence de transfert de matière vers le produit suivant. La méthode placebo n'est pas jugée suffisante la validation de nettoyage. Elle peut être utilisée comme méthode complémentaire dans le cadre d'une validation de nettoyage.

4.7. Les méthodes d'analyses²³

Dans les validations de nettoyage, les méthodes de microbiologie sont employées pour la recherche des microorganismes type bactéries. Les méthodes analytiques quant à elles s'appliquent pour la recherche des contaminants de nature chimique issus soit des matières des lots précédents ou des produits de nettoyage utilisés.

4.7.1 Analyses microbiologiques

Pour l'analyse microbiologique, il existe des méthodes qui sont décrites à la pharmacopée et des méthodes nouvelles qui sont issues de l'industrie agro-alimentaire mais qui pourraient être appliqués dans l'industrie pharmaceutique.

○ Choix de la méthode

Le choix de la méthode se fait en fonction de la surface à prélever et du type d'échantillons. (Boîtes contact, écouvillon, eaux de rinçage)

Les méthodes décrites à la pharmacopée sont les suivantes :

-Filtration sur membrane : adaptée aux échantillons liquides et qui donne les résultats au bout d'une semaine.

-Ensemencement direct : adaptée aux échantillons sous formes solides et liquides. Les résultats sont disponibles au bout de quatorze jours.

-Test LAL : il existe des méthodes qualitatives et quantitatives. Ce test est réservé pour les formes stériles. Il permet la détection des pyrogènes.

Autres méthodes :

-ATP-métrie, bioluminescence : méthode qui met en évidence l'ATP des microorganismes qui est révélé par l'émission de lumière liée à la réaction entre l'ATP et le complexe enzymatique luciférine-luciférase.

-Epifluorescence : Technique basée sur l'émission de signaux fluorescents par les cellules bactériennes qui ont été traitées par un réactif spécifique. Cette méthode permet le comptage des cellules.

Ce sont des méthodes rapides, qui sont peu sensibles (valables pour des échantillons très contaminés) et qui ne sont pas parfaitement corrélés avec les méthodes des pharmacopées.

Méthodes d'analyses	Caractéristiques									
	Méthodes de prélèvements				Fiabilité	identification	Rapidité résultat	Facilité mise en oeuvre	Automatisation	Coût
	C	E	R	RMC						
Incubation d'une gélose	x				+++	oui	2-5 j	+++	non	+
Ensemencement direct	x	x		x	+++	oui	14 j	+++	non	+
Filtration sur membrane			x	x	+++	oui	7j	+++	non	+
ATP- métrie		x	x	x	+	non	3 -5 min	+	non	++
Epifluorescence		x	x	x	++	oui	1-2h	++	oui	+++
Test LAL			x		+++	non	qques h	++	oui	++

C :contact ;E : Ecouvillonnage ; R : prélèvement stérile de solution de rinçage ;RMC : répartition de milieux de culture+ :faible ; ++ :moyen ;+++ : élevé

Tableau8 : Comparaison des méthodes microbiologiques⁴

- Référentiel microbiologique

Le référentiel utilisé est la pharmacopée européenne (7^e édition). Les méthodes de traitement des échantillons, de mise en culture et d'interprétation sont décrites dans les monographies 2.6.12 et 2.6.13 de la pharmacopée européenne.

De nombreuses compagnies prennent comme critère d'acceptation, la valeur de 10 cfu/25 cm² et l'absence de pathogènes tels que *E. coli* et les salmonelles.

4.7.2 Analyses physico chimiques²³

- Choix de la méthode

La sensibilité de la méthode analytique doit être appropriée au calcul de la limite résiduelle acceptable. La méthode choisie doit être facile d'utilisation, rapide. Elle doit répondre aux exigences de l'ICH (International Conference of Harmonization) et des pharmacopées américaines et européennes.

Les critères de choix des méthodes analytiques sont :

La sensibilité

La sensibilité d'une méthode d'analyse est définie comme étant le rapport de la variation de la réponse instrumentale de la méthode d'analyse à la variation de la concentration en analyte. Une méthode est « sensible » si une faible concentration en analyte entraîne une réponse significative.

Le seuil de détection

Le seuil de détection est la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée par la méthode d'analyse mais qui n'est pas quantifiable.

La spécificité

La spécificité d'une méthode analytique est sa capacité à fournir une évaluation univoque de la substance à examiner en présence d'autres composants (impuretés, produits de dégradation...)

La linéarité

La linéarité d'une méthode analytique est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration en analyte dans l'échantillon.

L'exactitude

L'exactitude exprime l'étroitesse d'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée comme telle, appelée également « valeur conventionnellement vraie ». L'exactitude prend en compte l'erreur totale, c'est à dire l'erreur systématique et l'erreur aléatoire liées au résultat.

La répétabilité/la reproductibilité

La répétabilité est la capacité de la méthode d'analyse à fournir le même résultat en réalisant plusieurs fois l'expérience dans des conditions mêmes conditions.

Les exigences relatives à la sensibilité et au seuil de détection sont fonction des critères d'acceptation fixés. Le choix de la méthode analytique dépend aussi de la facilité de mise en œuvre, du matériel disponible, du coût, de la méthode de prélèvement et de l'expérience acquise.

Les méthodes analytiques les plus couramment utilisées peuvent être spécifiques ou non spécifiques.

Méthodes rapides

-Caractères organoleptiques

Vérification faite au moment du prélèvement, l'obtention du résultat est immédiate.

-Résistivité/conductivité

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

-pH

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

-Dosage acide/basique

Méthode applicable à la recherche de traces de détergent. Son seuil de détection est satisfaisant et elle permet une quantification précise.

-Spectrophotométrie UV-visible

Lecture directe possible mais quantification moins spécifique.

Méthodes plus élaborées

-CCM : Chromatographie sur couche mince

Méthode spécifique mais qui dans certains cas n'est pas utilisable car la quantification et le seuil de détection sont insuffisants.

-CLHP : Chromatographie en phase liquide

Méthode qui nécessite un appareil et une main d'œuvre qualifiés, qui offre des seuils de détection et une spécificité satisfaisants. la quantification est précise et la méthode permet de détecter des produits de dégradation. Cependant, la mise en œuvre est longue.

-CPG Chromatographie en phase gazeuse

Méthode dont les caractéristiques se rapprochent de celles de la CLHP mais qui est utilisée pour les composants volatils.

-Méthodes biochimiques

Méthodes permettant un dosage enzymatique des composés organiques avec une bonne spécificité et un bon seuil de détection.

-COT Carbone organique total

Méthode qui nécessite l'emploi d'un appareil couteux. Elle est utilisable pour les produits organiques et hydrosolubles. C'est une méthode très sensible, capable d'avoir un seuil de détection <0,5 ppm. Elle permet d'avoir un résultat rapide mais la quantification n'est pas spécifique.

Méthode d'analyse	Caractéristiques				Applications	
	Sensibilité	Spécificité	Simplicité	Coût	Résidu chimique	Agent de nettoyage
Résistivité / conductivité	+	+	+++	++	Non	Oui
pH	+	+	+++	++	Non	Oui
Dosage Acide/Base	++	+	++	++	Non	Oui
Perte à la dessiccation	++	+	++	+	Oui	Oui
Spectrophotométrie UV / Visible	+++	++	+++	++	Oui	Non
CCM	++	+++	++	++	Oui	Non
HPLC	+++	+++	+	+++	Oui	Non
CPG	+++	+++	+	+++	Oui	Oui
Enzymatique	+++	+++	++	++	Oui	Non
TOC	+++	Non	++	+++	Oui	Oui

Tableau 9 : Comparaison des méthodes d'analyses physico chimique⁴

○ Validation analytique

La méthode analytique doit être validée c'est-à-dire que la procédure doit prouver que les résultats obtenus en employant la méthode sont justes et fiables.

Pour valider des méthodes analytiques, on peut se référer aux textes suivants :

- Chapitre 1225 de l'USP (validation of compendial methods)
- ICH Q2 (R1) 2005 (validation of analytical procedures tests and methodology)
- "Guide de validation analytique" STP Pharma Pratiques 2 (4) 205-226 1992

- Taux de recouvrement²³

Le taux de recouvrement est utilisé pour s'assurer que la méthode de prélèvement permet de récupérer de façon adéquate le résidu contaminant présent sur les surfaces des équipements de production ; Pour prouver l'efficacité de la méthode de prélèvement, des études de taux de recouvrement sont réalisées dans des conditions aussi proches que celles des prélèvements de routine. Les taux de recouvrement doivent être réalisés sur un minimum de 3 essais.

L'étude de recouvrement consiste à déposer une quantité connue de résidu contaminant en solution sur une surface de taille connue. La surface est alors prélevée et l'échantillon est analysé.

Calcul du taux de recouvrement :

$$R\% = \frac{\text{quantité de résidu retrouvée après échantillonnage} \times 100}{\text{quantité de résidu déposée}}$$

Les taux de recouvrement sont considérés comme acceptables si ils sont supérieurs à 70%. La reproductibilité est calculée à l'aide du coefficient de variation (CV). Lorsque le CV est inférieur à 10% sur les 3 prélèvements, la méthode est considérée comme reproductible.

4.7.3 Détergent

Une méthode analytique doit être aussi développée pour retrouver les traces de détergent après nettoyage. Elle peut être basée sur la méthode du fournisseur en détergent. Les traces de détergent sont recherchées dans les eaux de rinçage.

4.8 Validité du nettoyage⁷

4.8.1 Temps de latence entre la fin de la production et le début de nettoyage

Des études sont menées sur le terrain pour déterminer la durée qu'il faut valider entre la fin de la production et le début de nettoyage. Ce temps est très important à valider car il influe sur l'efficacité du nettoyage.

En effet, plus le temps avant le nettoyage est long, plus les salissures s'installent durablement et sont plus difficiles à enlever. De plus, s'il s'agit de contamination microbienne, le nombre de bactéries peut augmenter surtout si les conditions de développement sont favorables.

Mais ce temps doit être aussi validé en tenant compte des possibilités logistiques, c'est-à-dire que l'entreprise doit pouvoir s'organiser pour faire les nettoyages à temps sans impacter sur le temps réservé aux opérations de production.

4.8.2 Temps de latence entre la fin du nettoyage et le début de la production

Des études microbiologiques sont réalisées afin de trouver au bout de combien de temps de latence, se produit une recontamination microbiologique de l'équipement qui pourrait en cas d'utilisation provoquer une contamination du produit.

Ce temps doit être une balance qui permet de laisser suffisamment de temps à l'entreprise pour produire sans faire un nouveau nettoyage et la sécurité d'utilisation du produit pour le patient.

4.9 Exploitation des résultats

Les résultats obtenus sont interprétés en fonction des critères d'acceptation fixés (limites résiduelles acceptables pour le traceur et le détergent). Pour être validés, les résultats doivent être inférieures aux LRA fixées.

Pour statuer sur la conformité des essais de validation de nettoyage, les prélèvements et les analyses doivent être réalisés au minimum à trois reprises et les résultats doivent être conformes.

4.10 Système documentaire

4.10.1 Le protocole de validation

Le protocole de validation est un document interne à l'entreprise qui définit les conditions de mise en place de la validation. Il doit être élaboré et approuvé préalablement à la validation. Les informations qu'on y retrouve :

- Définition des objectifs à atteindre
- Rappels sur les responsabilités des différents intervenants
- Description des équipements utilisés
- Le temps de latence entre la fin de la production et le début du nettoyage
- Des informations sur le procédé de nettoyage : procédures à utiliser
- Les tests à effectuer : contrôles visuels
- Les prélèvements : plans d'échantillonnage, conditions et méthodes de prélèvement
- Description des méthodes de traitement et d'analyse des échantillons
- Les critères d'acceptation
- Les documents pour l'enregistrement de la validation

4.10.2 La procédure de nettoyage

La procédure de nettoyage ou le mode opératoire de nettoyage est le document sur lequel l'opérateur se base pour effectuer le nettoyage. Il doit être le plus précis possible surtout dans le cas d'un nettoyage manuel. Il contient les éléments suivants :

- Le nombre de lots maximal fabriqués par produit avant le nettoyage
- Le démontage des équipements
- Les étapes du nettoyage (lavage, rinçage, séchage)
- La concentration en détergent
- Conditions du nettoyage : le volume d'eau à utiliser, la pression du jet d'eau, la température, le temps de contact avec le détergent
- Les temps moyens de nettoyage
- Les conditions de stockage après nettoyage

4.10.3 Le rapport de validation

Le rapport de validation est établi après la validation. Ce document a pour but d'analyser les données brutes pour prendre une décision ou traduire une tendance. Le rapport rappelle les conditions opératoires des essais .Les résultats physico chimiques et microbiologiques sont présentés de façon synthétique. Ces résultats sont comparés aux limites d'acceptation. Les observations et écarts relevés au cours de la validation figurent également dans le rapport. Les conclusions du rapport doivent être claires et objectives. Elles doivent conduire à des propositions et des recommandations pour améliorer la procédure de nettoyage.

Partie III : Application et Enjeux d'une validation de nettoyage

1. Cas pratique : validation de nettoyage appliquée à un équipement de centrale de pesée

1.1. Présentation du contexte

Dans le cadre de mon stage de fin d'études, j'ai pu participer à un projet de validation de nettoyage au sein de la centrale de pesée du site de production de Gidy appartenant à l'entreprise SERVIER. Le site de Gidy est spécialisé dans la production de formes sèches pour la France, l'Europe et le reste du monde (235 millions de boîtes produites pour l'année 2010).

La centrale de pesée de Gidy est une installation bien fournie en équipements de haute technologie et la capacité de production est de 30 lots par jour.

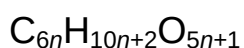
La centrale de pesée est équipée de plusieurs lignes de pesée, manuelles et automatisées. La validation de nettoyage que nous allons étudier a été réalisée sur une des lignes automatisées.

La ligne automatisée comprend trois équipements similaires dédiés chacun à la pesée d'un excipient. Les excipients pesés sur ces équipements sont la cellulose, le talc neige et le mannitol (équipement non fonctionnel pour l'instant pour cette matière).

Chaque équipement est mono produit c'est-à-dire strictement dédié à la pesée du même excipient. Du fait de la conception de chaque équipement et surtout de son confinement, le risque de contamination croisée entre l'excipient en question et un autre excipient de l'équipement d'à côté est nul. Les seuls risques à craindre sont soit une contamination bactérienne ou soit une contamination par un détergent en cas de mauvais nettoyage.

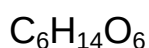
1.2. Description des excipients

La cellulose microcristalline



C'est d'un glucosane donc un dérivé des sucres, d'origine végétale. Poudre blanche ou sensiblement blanche qui peut être fine ou granuleuse. Elle est insoluble dans l'eau et est couramment utilisée comme liant, diluant, agent de désagrégation ou lubrifiant dans les formulations de comprimés. Pour optimiser les fonctions de liant, diluant et de désagregant du mannitol les paramètres tels que la distribution de la taille des particules et l'aptitude à l'écoulement de la poudre doivent être contrôlés.

Le mannitol



C'est un polyol. Poudre cristalline ou granulés à écoulement fluide, blancs ou sensiblement blancs et qui est facilement soluble dans l'eau. Il est utilisé comme édulcorant, diluant. La distribution de la taille des particules et l'aptitude à l'écoulement sont des caractéristiques qui influencent les propriétés de diluant du mannitol. C'est un excipient à effet notoire.

Le talc neige

Silicate de magnésium hydraté, naturel, sélectionné et pulvérisé. La formule chimique du talc pur est $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$. Sa propriété la plus intéressante est son excellent pouvoir anti adhérent dû à sa structure lamellaire. Le talc est utilisé principalement dans la préparation des poudres pour usage externe pour son onctuosité au toucher et dans la formulation et la fabrication des comprimés pour ses propriétés d'agent d'écoulement et d'anticollant. Les caractéristiques liées à sa fonctionnalité à surveiller sont la distribution de la taille des particules et la surface spécifique.

1.3. Définition du worst case produit

Le worst case produit a été choisi en fonction des propriétés des différentes matières passant sur l'équipement. Le mannitol est exclu d'office car l'équipement pour les pesées de mannitol n'a pas encore subi l'étape préalable de qualification et n'est pas encore en fonctionnement. Le choix devait se faire entre la cellulose et le talc. Le choix s'est porté sur la cellulose car c'est un produit d'origine végétale, qui requiert selon la pharmacopée européenne une recherche de germes plus complète que pour le talc. De plus la cellulose ne présente pas d'effet inhibiteur sur la croissance des micro-organismes ce qui permet de l'utiliser comme worst case.

1.4. Description de l'équipement et de son fonctionnement

L'équipement de pesée à valider s'organise en deux grandes parties réparties sur deux niveaux. La partie 1 est au niveau supérieur et la partie 2 au niveau inférieur. La partie 1 est située dans la zone grise et la partie 2 dans une zone blanche avec des règles d'hygiène plus strictes.

La partie 1 est constituée d'un grand sac dont le poids peut varier de 600 à 900 kg et qui contient la matière à peser. Ce sac est installé sur un châssis qui est un support pour le sac. Le sac est directement raccordé à la goulotte de jonction entre les deux niveaux par l'intermédiaire d'une vanne Buck.

La vanne Buck est un système de transfert particulier qui assure un total confinement de la matière qui est transféré du sac vers l'intérieur de l'équipement situé en zone blanche. Un système est installé sur le châssis pour permettre l'écoulement de la matière.

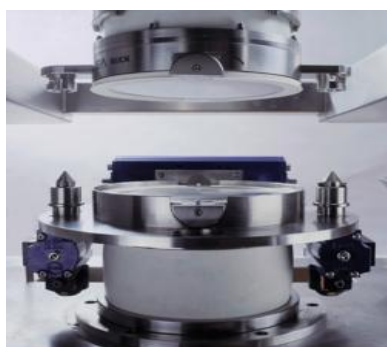


Figure 10 : Photo de la vanne Buck

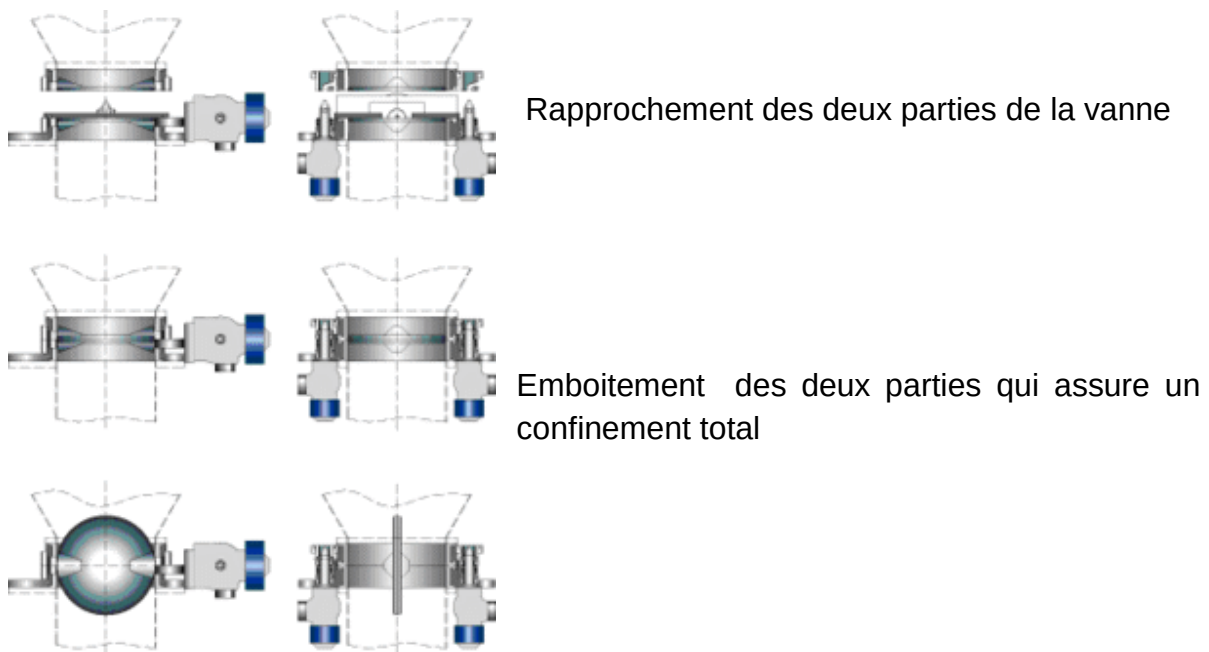


Figure 11 : Schéma descriptif du fonctionnement de la vanne

La vanne assemblée est alors ouverte pour laisser passer la matière. Ce système garantit l'absence de contamination de la matière lors du transfert du sac vers l'intérieur de l'équipement.

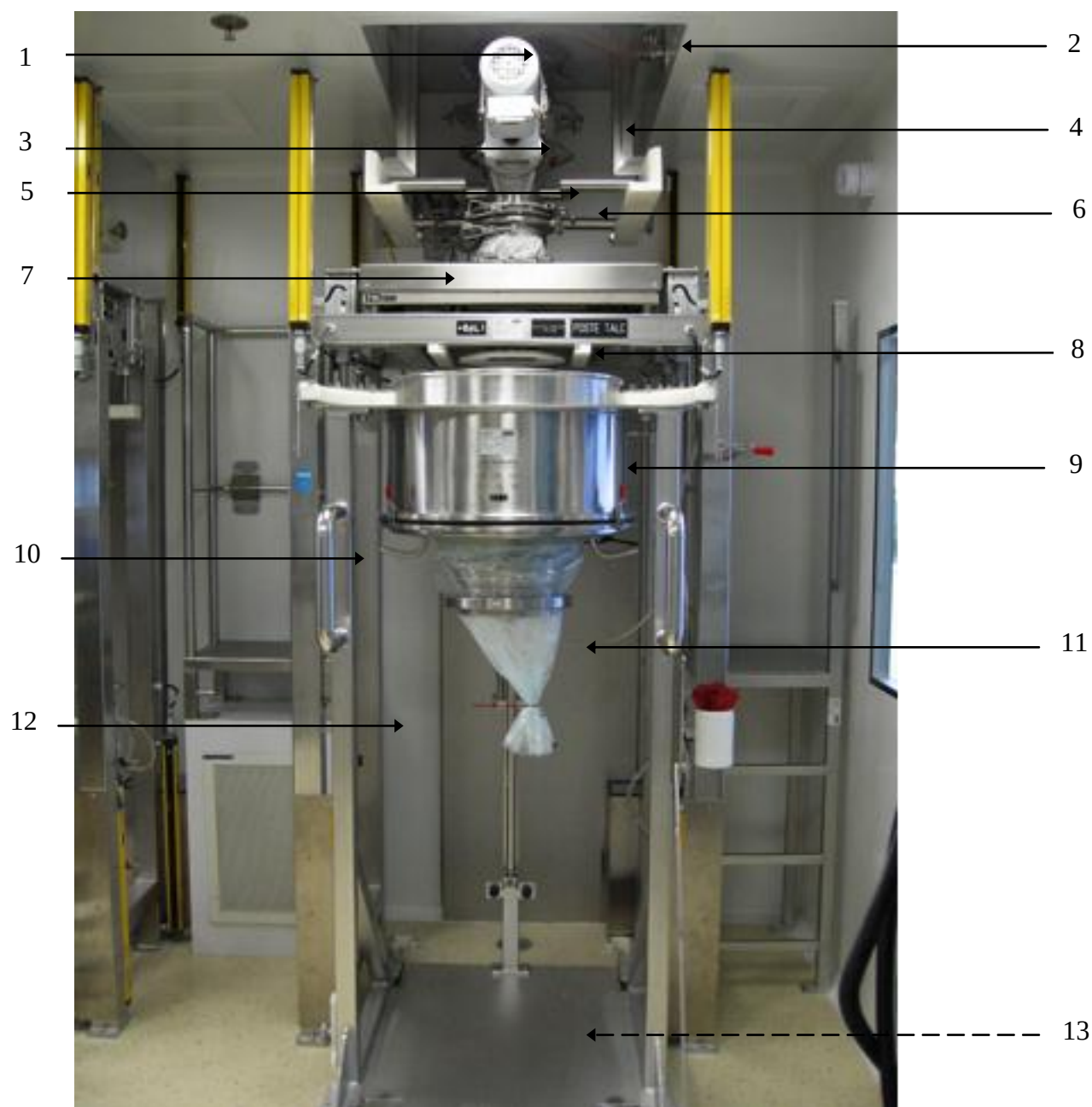
La goulotte de transfert entre la partie 1 et la partie 2 est un cylindre fait en inox 316L qui est la matière recommandée pour l'usage pharmaceutique. L'équipement de la partie 2 est représenté sur la figure 9. La partie 2 est constituée d'une vanne de transfert supérieure et d'un système de vis doseuse qui permet d'acheminer la matière vers le dévidoir de sachet. Le dévidoir qui est une petite trémie, est monté sur une balance. Une fois la quantité à peser atteinte, la vanne de transfert supérieure se ferme. La matière est transférée du dévidoir vers une sachet plastique. La sachet est raccordée manuellement à la vanne de transfert du dévidoir qui s'ouvre alors pour laisser passer la matière. Les différentes étapes de pesées sont contrôlées par l'opérateur via un logiciel informatique de pesée.

Pour le nettoyage des équipements, la goulotte supérieure est nettoyée à l'aide d'un système de nettoyage en place déjà validé sur d'autres équipements. Le reste du matériel de pesée est démonté et nettoyé en laverie.

Les équipements qui seront nettoyés manuellement :

- Le châssis portant le dévidoir de sachet
- La vis doseuse et sa pièce de protection
- Les pièces utilisées pour le transfert de la matière première (Vannes)
- La manchette de liaison avec la goulotte de transfert
- Le flexible d'aspiration

Figure 9 : Photo descriptive de l'équipement Big-Bag (ligne 2)



1 : Goulotte de transfert N+1

2 : Flexible d'aspiration

3 : Vis de dosage

4 : Manchette de liaison

5 : Pièce de protection de la vis de dosage

6 : Vanne de transfert

7 : Balance

8 : Pièce de transfert de la matière première

9 : Dévidoir de saches

10 : Châssis balance

11 : Liner de saches

12 : Châssis Unité de Manutention

13 : Goulotte de transfert N-1

1.5. Choix des points critiques

Les points critiques lors du nettoyage qui sont aussi les points de prélèvements sont choisis en fonction de la difficulté d'accès des pièces pour le nettoyage et de la géométrie de l'équipement. Les points critiques retenus sont les suivants :

- Vanne de transfert de la matière
- Pièce de protection de la vis doseuse
- Manchette de liaison avec la goulotte de transfert
- Vis doseuse

Pour cette validation, 4 points de prélèvement ont été établis et seront prélevés selon le plan d'échantillonnage.

1.6. Mise en place du protocole et de la méthode de nettoyage

Le protocole de validation de nettoyage est élaboré et validé par l'assurance qualité. Les points clés de ce protocole sont les suivants :

- L'essai de validation de nettoyage doit être réalisé à trois reprises en appliquant la méthode de nettoyage sélectionnée.
- Après le nettoyage une inspection de l'équipement doit être faite par les opérateurs pour garantir le visuellement propre, qui est la condition sine qua non pour les prélèvements.
- Le but de la validation est de vérifier l'absence de contamination microbienne au-delà des limites fixées après le nettoyage. La validation de nettoyage est microbiologique. Il n'y a pas de recherches de détergent car le nettoyage est fait uniquement à l'eau, ni de recherches de matière car l'équipement est mono produit.
- Le personnel intervenant dans le nettoyage est formé à la méthode de nettoyage de l'équipement mais aussi à déterminer si le visuellement propre est atteint.
- Il a été également validé avec l'expérience et des essais réalisés sur le terrain que le nettoyage de l'équipement doit être fait tous les 90 jours ou après une pesée de 150000 kg. Les études ont montré que après cette durée ou après la pesée de telles quantités, l'empoussièrement de l'équipement exige un nettoyage pour éviter la contamination microbiologique.

La méthode de nettoyage est choisie en fonction des méthodes déjà en place sur le site pour harmoniser les méthodes. Dans le cas de notre étude, l'équipement est mono produit et la matière à nettoyer est un excipient donc ne pose pas de problèmes particuliers pour le nettoyage.

La Méthode de nettoyage retenue est la suivante :

Lavage de l'équipement à l'eau purifiée à une température de 55°C pendant 2 – 5 minutes en fonction des pièces à nettoyer.

Pré séchage avec une soufflette reliée au système d'air comprimé.

Séchage final dans une cabine de séchage paramétrée avec un cycle de 30 minutes et une température maximale de séchage de 60°C.

La méthode a été essayée sur les équipements et des améliorations ont été apportées notamment sur le nettoyage de la vis de dosage qui est un point critique.

Une action mécanique supplémentaire pendant le nettoyage, consistant à frotter la vis de dosage avec une lingette imbibée d'eau purifiée pour enlever les traces de poudre restantes a été rajoutée. Un passage d'une lingette imbibée d'éthanol à 70% sur la surface de la vis avant le séchage en cabine a aussi été rajouté au mode opératoire de nettoyage.

1.7. Prélèvements et analyses

Les prélèvements sont effectués en suivant le plan d'échantillonnage. Pour les prélèvements, la méthode d'écouvillonnage est utilisée. A l'aide d'un écouvillon sec on frotte la partie de l'équipement nettoyé à prélever en respectant la surface de 25cm². L'écouvillon est directement mis dans un bouillon nutritif comme le milieu trypticase soja dans lequel les bactéries seront relarguées. Le milieu nutritif est alorsensemencé sur une boîte de gélose qui est mise à incuber dans une étuve. Après la période d'incubation, les bactéries sont dénombrées et avec des tests spécifiques, on peut déterminer les souches bactériennes présentes dans le milieu de culture et à l'origine sur l'équipement nettoyé.

1.8. Résultats et interprétation

Les critères d'acceptation ont été fixés en interne. Ces critères d'acceptation fixés dans le cadre de la validation de nettoyage microbiologique sont les suivants :

- ≤ 20 UFC/25 cm²
- Absence d' *Escherichia coli*, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Staphilococcus aureus* et de *Salmonella*
- Absence de germes de portage humain type *Klebsielle*

Résultats

La période à valider entre les nettoyages étant de 3 mois, la validation de nettoyage s'est étendue sur une année. Le nettoyage a été effectué trois fois suivis de prélèvements et d'analyses des résultats.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Partie de l'équipement prélevée		Type de prélèvement	Essai 1 du 21/09/2010	Conformité C/NC	Essai 2 du 21/12/2010	Conformité C/NC	Essai 3 du 01/07/2011	Conformité C/NC
1	Pièce de transfert matière première	Ecouvillon quantitatif	< 1UFC/25 cm ²	C	< 1UFC/25 cm ²	C	< 2UFC/25 cm ²	C
2	Pièce de protection de la vis de dosage	Ecouvillon quantitatif	< 1UFC/25 cm ²	C	< 1UFC/25 cm ²	C	< 1UFC/25 cm ²	C
3	Manchette de liaison avec la goulotte de transfert	Ecouvillon quantitatif	< 2UFC/25 cm ²	C	< 186FC/25 cm ²	NC	< 1UFC/25 cm ²	C
4	Vis de dosage	Ecouvillon quantitatif	< 1UFC/25 cm ²	C	< 1UFC/25 cm ²	C	< 1UFC/25 cm ²	C

Tableau 10 : Résultats de la validation de nettoyage

L'essai 1 réalisé le 21/09/2010 est concluant. Pour l'essai 2 du 21/12/2010, des germes humains non pathogènes ont été retrouvés. Les investigations ont montré que ce sont des germes qui sont apparus lors du remontage de l'équipement. Leur présence ne remet pas en cause la méthode de nettoyage mais plutôt l'application de la méthode par les opérateurs. Des actions correctives ont été mises en place suite à cette anomalie. Le personnel a été à nouveau formé aux règles d'hygiène à respecter lors du nettoyage des équipements.

Après la mise en place de cette formation, l'essai 3 a été reprogrammé de façon à garantir que le dernier nettoyage de l'équipement date de trois mois. L'essai 3 a été fait le 01/07/2011 et il s'est avéré concluant.

Au vu des résultats qui sont conformes pour les trois essais aux spécifications microbiologiques fixées, la méthode de nettoyage est validée.

Conclusion

Les résultats des 3 essais ont permis de faire un rapport de validation de nettoyage qui reprend brièvement le déroulement des essais, les résultats et leur interprétation en fonction des spécifications.

Au vu de cette validation de nettoyage concluante, la méthode de nettoyage est validée pour une période de 3 ans au maximum avant de faire l'objet d'une réévaluation. Elle pourra néanmoins faire l'objet d'une revue en cas de changement d'un paramètre de la validation qui peut impacter sur la méthode de nettoyage (par exemple, l'ajout d'un nouveau produit sur le site qui devient le nouveau produit worst case)

2. La validation périodique de nettoyage et intérêt

La validation périodique selon les BPF est un « renouvellement de la validation du procédé en vue de démontrer que les changements introduits dans le procédé/équipement conformément aux procédures de maîtrise des changements ne comportent aucun risque pour les caractéristiques du procédé et la qualité du produit. »

C'est une exigence des BPF, définit dans la ligne directrice 15 au paragraphe 45 : « Les installations, systèmes, équipements et procédés, y compris **le nettoyage**, doivent être régulièrement évalués en vue de confirmer leur validité. Lorsqu'aucun changement important n'est intervenu au niveau du statut validé, un examen attestant que les installations, systèmes, équipements et procédés satisfont aux exigences prescrites tient lieu de revalidation. »

La revalidation de nettoyage en pratique sur le site de Gidy s'effectue **tous les trois ans** et consiste à évaluer sur la durée les changements qui sont intervenus et leurs impacts. Si il n'y a pas de changement significatif, la procédure de nettoyage est maintenue et la validation reconduite automatiquement. Cette démarche permet de rester conforme aux exigences réglementaires c'est-à-dire garantir la validité de la méthode de nettoyage. Elle évite aux entreprises de d'effectuer de nouvelles validations de nettoyage et constitue un gain de temps et de ressources.

3. Les points clés pour réussir la validation de nettoyage

Les points suivants sont indispensables à maîtriser pour garantir le bon déroulement de la validation de nettoyage mais il faut garder à l'esprit que la réussite d'une validation de nettoyage repose essentiellement sur les actions des personnes qui y participent.

Implication des opérateurs

Dès le début du projet de validation de nettoyage, on doit faire appel aux opérateurs. Avec les connaissances techniques et l'expérience dont ils disposent, leur aide peut s'avérer utile pour déterminer le worst case produit ou encore le choix des points critiques sur l'équipement. Lors de l'élaboration de la méthode de nettoyage, les opérateurs doivent être consultés et doivent donner leur avis sur la réalisation pratique de la méthode. L'implication des opérateurs tout au long du projet de validation de nettoyage leur permet de se sentir concernés par le projet et de contribuer activement à sa réussite.

Formation au mode opératoire et au respect des règles d'hygiène

Il est indispensable d'organiser les essais de méthode de nettoyage préalables à la validation de nettoyage avec des opérateurs, car c'est eux qui appliqueront la méthode une fois qu'elle sera validée. Les opérateurs doivent bénéficier d'une formation à la méthode de nettoyage et d'une évaluation pour vérifier la compréhension de la méthode et sa maîtrise. Périodiquement, il peut être utile de reformer le personnel à la méthode de nettoyage. En effet avec le temps, des dérives peuvent s'installer et seule la formation permet d'homogénéiser les pratiques de nettoyage.

Un rappel sur les règles d'hygiène doit être fait régulièrement au personnel travaillant en production. La pratique courante en entreprise conformément aux B.P.F est de faire une formation initiale et des rappels et formations sur le terrain programmés de façon régulière par la suite.

Organisation de la Validation de Nettoyage

L'organisation de la validation de nettoyage est la plupart du temps faite en même temps que les opérations de production. Il est indispensable de pouvoir coordonner le travail de toutes les équipes. Après la production d'un nombre de lots validé dans l'équipement, l'équipe de production doit assurer le nettoyage et les équipes des laboratoires analytiques et/ou microbiologiques doivent faire les prélèvements au bon moment. Il doit avoir une bonne communication et une bonne coordination entre tous les départements impliqués dans la validation de nettoyage.

La documentation

La documentation de la validation de nettoyage doit être construite. Ce sont ces documents qui justifient les choix faits dans l'élaboration de la stratégie de validation de nettoyage. Le mode opératoire, le protocole et le rapport de validation sont des documents importants dans la validation de nettoyage et qui peuvent faire l'objet d'audit. Il est primordial de disposer de toutes les données brutes et les informations obtenues lors des

essais de validation mais surtout de les archiver soigneusement pour ne pas se retrouver en difficulté en cas d'inspection ou d'audit.

Gestion des prélèvements

Ce sont les prélèvements qui permettent de justifier la réalisation de la validation de nettoyage. Il faut veiller à ce que les échantillons soient prélevés au moment préétabli et conservés dans la limite de temps prévu pour garantir leur stabilité. Les prélèvements doivent être faits en respectant le protocole de validation. Les techniciens qui effectuent les prélèvements doivent être correctement formés surtout pour la partie microbiologique où une mauvaise manipulation de l'échantillon peut remettre en cause son authenticité.

Gestion de l'impact documentaire

A la fin de la validation de nettoyage, le processus de gestion des modifications doit être mis en place automatiquement pour modifier tous les documents qui sont impactés par les conclusions de la validation de nettoyage. (les procédures qui sont rattachées à la validation de nettoyage par exemple)

4. Enjeux actuels et problématiques liés au sujet de la validation de nettoyage

Cette partie aborde les nouvelles approches et les débats qui sont menés à l'heure actuelle sur le sujet.

4.1. Enjeux environnementaux

Le nettoyage des équipements est une opération qui nécessite obligatoirement de l'eau, indifféremment du fait que le nettoyage soit manuel ou automatisé ou encore implique l'emploi d'un détergent. En plus de l'eau utilisée pour les nettoyages, les industries utilisent l'eau pour divers autres besoins notamment en tant qu'excipient rentrant dans la composition de certaines spécialités. Il est évident que pour continuer à produire les médicaments, l'utilisation de l'eau pour le nettoyage est inévitable. Mais les industries de santé ont aussi compris que l'eau est indispensable pour la vie et elles essayent de trouver des moyens pour préserver cette ressource naturelle.

Réduction ou rationalisation de la consommation en eau

Pour réduire les consommations en eau, plusieurs approches peuvent être associées.

- Facteur humain

Le personnel de l'entreprise doit être sensibilisé sur l'utilisation de l'eau ; Des formations pratiques doivent être dispensées aux opérateurs en charge des opérations de nettoyage pour leur apprendre à faire un nettoyage suffisant mais surtout économique. Ces formations doivent viser à rationaliser l'eau utilisée et éviter les gaspillages.

- Indicateurs sur les volumes utiles

Un calcul des volumes utiles en eau pourrait être fait c'est-à-dire un calcul théorique des volumes nécessaires en eau de nettoyage basés sur le fonctionnement de l'activité. Des mesures seront faites lors des nettoyages pour estimer les volumes réels et ces volumes seront comparés aux volumes théoriques. Ceci permettra de voir si l'utilisation de l'eau correspond aux prévisions et en cas de dérives de mettre des actions en place.

- Amélioration des procédés de nettoyage

En cas de nouveaux procédés de nettoyage ou en cas de modification des procédés existants, un des objectifs doit être de créer des procédés qui permettent un nettoyage efficace en rationalisant les quantités d'eau utilisée. Dans le cas des nettoyages en place, l'approche existe déjà avec le système de recirculation de la solution de nettoyage utilisée plusieurs fois dans l'équipement et l'utilisation d'un rinçage final. Le fait de réutiliser la même solution plusieurs fois permet de diminuer les quantités d'eau consommées.

Maitrise des rejets en effluents

Les eaux usées doivent être dépolluées le mieux possible à l'aide d'un système d'épuration en aval des usines de production.

La plupart des sites pharmaceutiques possèdent leur propre station d'épuration ou alors sous traitent cette activité. Les stations d'épuration permettent de traiter les eaux polluées en appliquant des méthodes de traitement mécanique (dégrillage, dégraissage, décantation), chimique (ajout de composés tels que l'acide citrique ou hypochlorite de sodium) et biologique (traitement aérobie ou anaérobie en présence de microorganismes qui se nourrissent de substances biodégradables).

Pour le bon fonctionnement de l'épuration, il faut connaître les quantités de polluants présents dans l'effluent et pouvoir minimiser les variations de débit et de température.

La maitrise de la qualité des rejets à la sortie des stations d'épuration est un sujet très important. Des études scientifiques récentes dont celle-ci : « Pharmaceutical formulation facilities as sources of opioids and other pharmaceuticals to wastewater treatment plant effluent » Phillips P et al. (Environ.Sci.Technol., 44(13) pp 4910 – 4916 (juillet 2010) ont montré la présence de substances pharmaceutiques à très faibles doses dans les cours d'eau, les eaux souterraines et l'eau potable. Les stations d'épuration sont mises en cause. Les effets de telles concentrations de principes actifs dans l'eau sur la santé humaine ne sont pas encore bien connus mais l'impact sur la faune et la flore est démontré. Dans cette étude effectuée aux États-Unis, il est démontré que dans les stations d'épuration reliées à des usines de production pharmaceutique, on retrouve des taux en molécules actives 100 – 1000 fois plus élevés que ceux mesurés dans les stations d'épuration non alimentées par les rejets des usines pharmaceutiques.

Le même constat a été fait en Inde qui est le 4^{ème} plus grand producteur de médicaments dans le monde, environ 8% du marché mondial en volume. Dans la région d'Hyderabad, des concentrations inédites de ciprofloxacine (antibiotique largement utilisé) et d'autres molécules ont été retrouvées dans les eaux. Les conséquences de cette pollution sont une féminisation de la population de poissons dans les cours d'eau environnants. Cette eau

est aussi consommée par la population et l'un des risques encourus est une perte de l'efficacité des antibiotiques du fait de l'augmentation des résistances dans la population.

La France n'est pas non plus en reste, une étude de l'Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS), réalisée dans le Puy de Dôme semble montrer la présence de substances médicamenteuses (perturbateurs endocriniens) dans la rivière Dore. Des conséquences ont été remarquées sur la population de goujons de la région notamment une masculinisation de la population et une diminution de leur nombre.

Les industries pharmaceutiques font partie des installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) qui regroupent les entreprises industrielles susceptibles de créer des risques ou de provoquer des pollutions ou nuisances notamment sur la sécurité et la santé des riverains. Ces entreprises reversent une taxe annuelle, la TGAP (Taxe Générale sur les Activités Polluantes) aux autorités locales. Par ailleurs, même si les entreprises pharmaceutiques en France sont soumises à la réglementation REACH sur les produits chimiques, sont pour certaines certifiées ISO 14001 et font partie des installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE), il n'existe pas à l'heure actuelle de loi sur le rejet des substances pharmaceutiques.

Les entreprises pharmaceutiques sont conscientes des enjeux environnementaux et de leur responsabilité dans la rationalisation de la consommation en eau et la maîtrise de la qualité des effluents rejetés. Leurs efforts vont s'accroître d'une part en raison des taxes pollueur-payeur qui pèsent sur eux en France et d'autre part avec la décision récente de la commission européenne de combler le vide juridique en matière de réglementation sur la présence des polluants pharmaceutiques dans les eaux de surface en Europe. Peut-on espérer dans un futur proche au vu des conséquences connues sur la faune des cours d'eau, une harmonisation de la législation au niveau mondial sur les rejets d'effluents dans les eaux ?

4.2. Enjeux liés à la productivité et la compétitivité

Dans le contexte économique mondial actuel et la nouvelle organisation du paysage pharmaceutique, la productivité est une notion capitale. Elle consiste en une mesure de l'efficacité d'un processus à transformer un ou des facteurs entrants en un résultat. La productivité d'une entreprise pharmaceutique est déterminée par une bonne organisation dans la gestion de la production. Comment réduire l'impact des validations de nettoyage et des nettoyages sur la productivité ?

Au cours de mon stage à la centrale de pesée, j'ai pu constater que l'organisation de l'activité demandait en moyenne 4 nettoyages par jour. La durée moyenne d'un nettoyage à la centrale de pesée est de 45 - 60 min. Ce temps ne prend pas en compte les étapes préalables de démontage des équipements ou encore le séchage de l'équipement. Il tient compte uniquement du nettoyage au sens propre du terme. Cette réflexion nous permet de comprendre que sur une journée une moyenne de 3 -4 h est consacrée au nettoyage. C'est une étape primordiale mais qui reste chronophage d'où l'importance de pouvoir

réaliser les opérations de nettoyage en temps masqué pour ne pas empiéter sur le temps de production. Le temps masqué consiste à réaliser certaines opérations en parallèle de l'activité principale pour gagner du temps. Mais cette organisation nécessite une main d'œuvre supplémentaire. Un autre point est de pouvoir mettre en place des méthodes de nettoyage adéquates qui permettent d'obtenir la propreté escomptée et éviter ainsi le surnettoyage et le surcoût associé.

Avec l'existence d'un marché concurrentiel pharmaceutique qui se développe au niveau des pays émergents, qui disposent aujourd'hui d'entreprises pharmaceutiques bénéficiant d'un coût de la main d'œuvre bon marché, d'avantages fiscaux et ayant de surcroît une bonne productivité, l'Europe fait face à une délocalisation massive de ses entreprises vers ces nouveaux horizons. Les questions à se poser sont comment alléger les vieilles méthodes de nettoyage utilisées en Europe pour qu'elles restent adaptées et répondent aux exigences réglementaires tout en étant pas un frein pour la productivité ?

4.3. Enjeux normatifs

La partie sur les enjeux normatifs permet de faire le bilan sur les attendus des autorités de santé en termes de normes fixées pour le nettoyage et les pratiques adoptées par les entreprises notamment pour les produits hautement toxiques.

Les BPF au chapitre 5 spécifie que la production doit être faite dans des zones séparées (exigée pour des produits comme les pénicillines, les vaccins vivants, les préparations bactériennes vivantes et certains autres produits biologiques), ou en travaillant par campagnes (séparation dans le temps) suivies d'un nettoyage approprié ; La FDA émet les mêmes recommandations. En ce qui concerne le nettoyage, les entreprises se basent sur les recommandations des agences de santé pour établir les limites d'acceptation. En pratique, ils utilisent la méthode du millième (basée sur la dose thérapeutique ou la toxicité), la méthode des 10 ppm et du visuellement propre.

La FDA et L'EMA (Agence européenne du médicament) souhaiteraient que les méthodes utilisées pour les limites résiduelles acceptables reposent sur une démarche d'analyse de risque fondée et scientifiquement justifiée.

Dans de nombreuses « lettres d'avertissement » (warnings letters) adressées aux entreprises, la FDA leur reproche de ne pas prendre assez de mesure de précaution pour éviter la contamination croisée surtout dans le cas des produits considérés comme hautement toxiques. La FDA décide de préciser la réglementation pour la production des produits hautement toxiques.

Les produits hautement toxiques sont des médicaments qui ont des effets de type cytotoxique, mutagène, génotoxique, allergisante et tératogène. Ces effets ne sont pas des effets thérapeutiques recherchés mais plutôt des effets indésirables inévitables et qui sont inhérents à la structure chimique des molécules.

ISPE (International Society for Pharmaceutical Engineering) est un regroupement de professionnels impliqués dans l'ingénierie et la production des produits pharmaceutiques.

Cette organisation a élaboré un document à l'intention des industriels, qui a été publié en septembre 2010 et qui traite du nettoyage des produits hautement toxiques. Ce document a reçu l'approbation de la FDA et de L'EMA.

Ce document, le « risk mapp » (risk based manufacture of pharmaceutical products), est un ouvrage qui permet de gérer les risques liés à la contamination croisée. Il donne la méthode à utiliser pour obtenir des limites résiduelles acceptables après nettoyage sur les sites multi produit qui fabriquent des produits hautement toxiques. Ces limites sont calculées en se basant sur l'ADE (Acceptable Daily Exposure). L'ADE tient compte du risque toxicologique contrairement à la méthode communément utilisée du millième qui est calculée à partir de la Dose minimale thérapeutique.

L'ADE (dose d'exposition journalière acceptable) correspond à une estimation de la dose journalière de substance en dessous de laquelle aucun effet secondaire n'est apparu quel que soit la voie d'exposition et pour une exposition au cours d'une vie entière. L' ADE est calculée à partir du NOAEL (No observe adverse effect level) qui est couramment utilisée en toxicologie.

La formule pour le calcul de L'ADE :

$$ADE = \frac{NOAEL(mg.kg.jr) \times BW}{UFC \times MF}$$

NOAEL = No observed adversed effect level

BW= Body weight (poids d'un home de taille moyenne)

UFC= Facteur de sécurité

MF= Facteur d'ajustement

Le calcul de la valeur limite d'acceptation basée sur l'ADE :

$$Health\ based\ limit(mg/swab) = \frac{ADE \times BS \times TA \times RF}{MDD \times SSA}$$

ADE=Acceptable Daily exposure (mg/jr)

BS = Batch size (mg) - taille du lot

TA= Test area (cm²) - surface swabée

RF= Recovery factor - facteur de recouvrement

MDD= Maximum Daily Dose (mg) - Dose journalière maximale

SSA= Surface Shared Area (cm²) - Surface de l'équipement commune aux deux produits

Les avantages de la méthode utilisant l'ADE :

Il s'agit d'une méthode qui tient compte des paramètres toxicologiques donc qui donne des limites acceptables plus favorables pour la santé des patients.

Pour les composés hautement toxiques, on obtient des limites fiables qui permettent de faire la production dans les mêmes équipements que pour les produits non hautement toxiques, sans aucun risque pour le patient.

Les inconvénients d'après la littérature :

-La méthode donne des limites moins strictes pour les composés non hautement toxiques comparée à la méthode du millième. (On aurait parfois un rapport de 1/20)

-Il faut déterminer L'ADE en faisant une évaluation toxicologique qui dépend du toxicologue et qui peut changer d'un toxicologue à l'autre. (Variation dans les facteurs d'ajustements)

Ce guide constitue une avancée dans le domaine de la sécurité des patients et des opérateurs. Avec la diversité des activités de production, il est difficile pour les autorités de santé de fixer des normes à respecter. Elles orientent les entreprises sur la méthode à adopter, celle abordée dans ICH Q9, qui consiste à évaluer à chaque étape le risque encouru. Le guide « Riskmapp » est d'autant plus intéressant parce qu'il apporte des précisions sur la gestion des risques associés à la contamination croisée. Il appartient aux entreprises de fixer leurs normes et de les respecter. Elles doivent aussi pouvoir justifier la conformité des résultats par une approche scientifique.

Conclusion générale

Le nettoyage est aujourd'hui une opération pharmaceutique importante car elle garantit la qualité du produit fabriqué. Cette opération intervient tout au long de la chaîne de production du médicament. Pour les formes sèches, on retrouve des étapes de nettoyage adaptées à l'équipement, de la centrale de pesée jusqu'au conditionnement secondaire du médicament.

La validation de nettoyage est un vaste sujet qui a une grande importance au sein de l'industrie pharmaceutique. Pour répondre aux exigences de santé publique, les entreprises réalisent des validations de nettoyage. Pour réussir cette validation, il faut définir une stratégie globale de validation de nettoyage en ciblant le matériel à valider. Dans un deuxième temps, il faut établir les prérequis de la validation de nettoyage (qualifier les équipements à nettoyer, qualifier les moyens de nettoyage...). La dernière étape consiste à adapter une méthode de groupage en appliquant le principe du pire des cas. Cette dernière étape si elle est fondée et bien documentée, doit permettre de simplifier la réalisation de la validation de nettoyage surtout sur les sites multi produits.

Le cas de la centrale de pesée de l'entreprise Servier (Gidy) illustre la mise en place de cette méthodologie de validation de nettoyage. Cette expérience de stage a permis de se rendre compte que l'essentiel des efforts pour mener à bien une validation de nettoyage doit être axé sur la réalisation de procédures simples et compréhensibles et sur la formation et l'encadrement du personnel intervenant sur le terrain pour les essais de validation de nettoyage. La validation de nettoyage est aussi une démarche longue et coûteuse, qui nécessite sur une bonne collaboration entre les différents services impliqués.

Tout au long de cette thèse, l'objectif a été de montrer que la mise en place d'une validation de nettoyage repose essentiellement sur le respect d'une méthode et allie contraintes de réalisation et participation du personnel. Aujourd'hui, les entreprises doivent faire face à de nouveaux défis qui sont les enjeux liés à l'environnement, au maintien de la compétitivité et au respect des normes.

Références bibliographiques

- [1] HeureudeC, Durandeau C.**Retour sur un siècle de sécurité sanitaire**.Sallespropres.2008 Juin;56:31-37.
- [2] BMCI.**Guide de l’ultra propreté 2008 – 2009**. 6è édition. Neuilly sur Seine : BCMI ; 2008.
- [3] Oursel M-H,BonissentD,DiverseyJ.**La chimie de base du nettoyage**. Salles propres.2007 Avril;49:18-21.
- [4] Laban F, Cauwet M, Champault V, Dampfhofer P R, Delestre E, Detoc S et al. **Validation des procédés de nettoyage Rapport d’une commission SFSTP**. S.T.P Pharma Pratiques.1996 Juin;1: 5-40.
- [5] Comptoir de la droguerie. **Schéma du Cercle de Sinner**. [En ligne]. 2010 janvier [consulté le 03/02/2012] Consultable à l’URL : <http://www.comptoir-droguerie.fr/seo/produits-entretien.html>
- [6] Cleaning validation and critical cleaning processes, conference Proceedings- IVT,June 19-20 2002; Dublin, Ireland.
- [7] Bailly J. **Stratégie de validation de nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique**. Thèse de doctorat d’état en pharmacie. [Thèse]. Lyon :Université Claude Bernard;2004. p.1-128.
- [8] Laban F, Bouloumie C, Bousquet-Bedu M,Cavil J, Dumant A, Durand F et al. **Choix et qualification des produits détergents et désinfectants**.S.T.P Pharma Pratiques.1999 Septembre ; 3:251-257.
- [9] Laban F, Cauwet M, Champault V, Dampfhofer P R, Delestre E, Detoc S et al. **Validation of cleaning procedures**.S.T.P Pharma Pratiques. 1997 Juillet; 2: 87-127.
- [10] Menozzi P.**La validation et la FDA :importance du plan directeur de validation**.Salles propres 1997; 6; 20-26.
- [11] Bharadia D P, Bhatt J A. **A review of current implementation strategies for validation of cleaning processes in the pharmaceutical industry**. Journal of Validation Technology. 2006 May; volume 12; 3: 218-231.
- [12]**Guide to inspections of validation cleaning processes**, FDA, 1993July.
- [13] Vanhooydonck J P. **Validation de nettoyage : un point clef des BPF**.S.T.P Pharma Pratiques.2000 octobre; 5:266-269.
- [14] **Bonnes Pratiques de Fabrication**. Version 2011/8 bis, AFSSAPS
- [15] GMP Européennes [En ligne]. 2011 Octobre [consulté le 06/03/2012] Consultable à l’URL : http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/index_en.htm

[16] Lee J Y. **FDA compliance issues for cleaning validation**. S.T.P Pharma Pratiques 2000 Octobre ; 5 : 292-295.

[17] FDA. **21 Code of federal Regulatory** -Parts 210, 211, 2010, FDA

[18] Site du PICS [En ligne]. 2011Décembre [consulté le 03/02/2012] Consultable à l'URL : <http://www.picscheme.org/>

[19] Site de l'OMS [En ligne]. 2012 [consulté le 03/02/2012] Consultable à l'URL : <http://www.who.int/fr/>

[20]Laban F, Bouloumie C, Bousquet-Bedu M, Cavil J, Dumant A, Durand Fet al. **Validation des procédés de nettoyage**.S.T.P Pharma Pratiques. 2000 Octobre; 5: 270-271.

[21] Bousquet-Bedu M, Dumant A.**Site pharmaceutique multiproduits : méthode degroupage en vue de simplifier la validation du nettoyage**.S.T.P Pharma Pratiques.2000 Octobre; 5:274-278.

[22] Fourman G L, Mullen M V. **Determining cleaning validation acceptance limits pharmaceuticalmanufacturing operations**.Pharm. Tech. April 1993; Volume 17; 4: 54-60.

[23] Laban F, Bousquet-Bedu M, Albadine J, Barbu M, Bonvarlet M N, Collart M et al.**Méthodes de prélèvement et méthodes analytiques pour le contrôle et/ou la validation de nettoyage**. S.T.P Pharma Pratiques. 2006 Mai/Juin ; Voume 16;3 : 193-217.

[24] Raynaud M. **Validation du procédé de fabrication dans l'industrie pharmaceutique, appliquée aux formes solides orales**. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. [Thèse]. Limoges : Université de Limoges;2011. p.1-120.

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2011/2012

Nom: DANDJINO
Prénoms : Maëlle Ifèdè

Titre de la thèse : Validation de Nettoyage : Mise en place et enjeux

Mots-clés : Validation – Nettoyage – Industrie pharmaceutique

Résumé

Le nettoyage fait partie intégrante des opérations de production. C'est une opération fondamentale et répétitive qui vise à remettre l'équipement dans un état de propreté qui permet la production. L'objectif du nettoyage c'est de réduire le risque de contamination croisée.

La validation de nettoyage est une approche pour standardiser la méthode de nettoyage, qui a plusieurs objectifs. Elle permet de satisfaire aux exigences réglementaires et de mieux connaître l'équipement de production. C'est une démarche de l'assurance qualité qui a pour but ultime de garantir au patient la sécurité du médicament.

Membres du jury:

Président : Mlle Gayot Anne, Professeur de Pharmacotechnie Industrielle, Faculté des sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Membres extérieurs :

Mme Arnould Aude, Responsable du Pôle Matières et Pesée, Les Laboratoires Servier (Gidy)

Mme Wautelet Anne-Lise, Responsable Assurance Qualité, Laboratoire Delpharm (Lys-les-Lannoy)