

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE

Laboratoire de Chimie Analytique et Bromatologie

N° 42

ANNÉE : 2018/2019

MEMOIRE

**MASTER ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES ET MANAGEMENT
DE LA QUALITE DES PRODUITS DE SANTE ET DES ALIMENTS**

**VALIDATION D'UNE METHODE DE PRELEVEMENT ET
D'ANALYSE DE MEDICAMENTS A BASE DE
PHENOBARBITAL DANS LE CADRE D'UNE VALIDATION
DE NETTOYAGE D'UN TRAIN DE GRANULATION**

Présenté et soutenu le 07 Janvier 2019 à 15H

Par M Ousmane GUEYE

Né le 07 Mai 1985 à NGATHIE (SENEGAL)

Membres du jury

Président : M Yérим Mbagnick DIOP Professeur titulaire

Membres : M Sérigne Omar SARR Professeur Titulaire

M Amadou DIOP Maître de Conférences Agrégé

Directeur de Mémoire : M Sérigne Omar SARR Professeur Titulaire

LISTE DES ABREVIATIONS

-=-=-=-

AFNOR	: Association Française de Normalisation
BPF	: Bonnes Pratiques de Fabrication
CLHP	: Chromatographie Liquide Haute Performance
cm	: Centimètre
CV	: Coefficient de Variation
FDA	: Food and Drug Administration
ICH	: International Conférence on Harmonisation
ISO	: International Organisation for Standardisation
µm	: Micromètre
AQ	: Assurance Qualité
CQ	: Contrôle Qualité
PA	: Principe actif
r	: Coefficient de corrélation
SFSTP	: Société Française des Sciences Techniques et Pharmaceutiques
USP	: United States Pharmacopeia
TACT	: Température, Action mécanique, action chimique, Temps
ASPEC	: Association pour la prévention et l'Etude de la Contamination
GMP	: Good Manufacturing Practices
LD	: Limite de détection
LQ	: Limite de Quantification
Ppm	: Partie par million
mg	: Milligramme
R	: Rendement
ml	: Millilitre
mm	: Millimètre
Rr	: Rendement de récupération
Re	: Rendement d'extraction
VIM	: Vocabulaire International de Métrologie
mn	: Minute

nm	: Nanomètre
tr	: Temps de rétention
tm	: Temps mort
%	: Pourcentage
°C	: Degré Celsius

LISTE DES FIGURES

- Figure 1* : Concept de la qualité totale
- Figure 2* : Structure de la validation
- Figure 3* : Schéma d'un chromatogramme
- Figure 4* : Détermination de la largeur des pics pour le calcul de la résolution
- Figure 5* : Schéma d'un dispositif de CLHP
- Figure 6* : Plaque inox de 100cm² (passage de la gauche vers la droite)
- Figure 7* : Chiffonnettes plié en deux par le milieu
- Figure 8* : Plaque inox de 100cm² (passage de bas en haut)
- Figure 9* : Chiffonnette replié
- Figure 10* : Plaque inox de 100cm² (passage oblique)
- Figure 11* : les chromatogrammes de la sélectivité
- Figure 12* : Graphe de la linéarité de dosage du Phénobarbital dans le Gardéнал 50mg
- Figure 13* : Graphe de la linéarité de dosage du Phénobarbital dans Gardéнал 100mg et Phénobarbital 100mg

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	: Les critères de validation analytique
Tableau II	: Préparation des solutions essais
Tableau III	: Critères de validité de la méthode analytique
Tableau IV	: Préparation des solutions essais à 50% et 100%
Tableau V	: Critère de validité de la méthode de prélèvement
Tableau VI	: Résultats de justesse Séries 1 - 2 et 3
Tableau VII	: Résultats de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire
Tableau VIII	: Résultats de la limite de détection et de quantification
Tableau IX	: Résultats de la linéarité Séries 1, 2 et 3
Tableau X	: Résultats des recouvrements dans le Gardénal 50mg
Tableau XI	: Résultats de la stabilité des prélèvements dans le Gardénal 50mg
Tableau XII	: Résultats de justesse Séries 1 - 2 et 3
Tableau XIII	: Résultats de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire
Tableau XIV	: Résultats de la limite de détection et de quantification
Tableau XV	: Résultats de la linéarité Séries 1, 2 et 3
Tableau XVI	: Résultats des recouvrements du Gardénal 100mg et Phénobarbital 100mg
Tableau XVII	: Résultats de la stabilité des prélèvements dans le Gardénal 100mg et Phénobarbital 100mg

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
<u>PREMIERE PARTIE : GENERALITES SUR LE NETTOYAGE ET LA VALIDATION ANALYTIQUE</u>	4
I – LE NETTOYAGE.....	5
I.1. – Définition.....	5
I.2. – Méthodes de	5
I.3. Justificatifs du nettoyage.....	5
I.4. Procédure de nettoyage.....	7
II. VALIDATION ANALYTIQUE.....	7
II.1. Définition.....	7
II.2. Validation et qualité.....	8
II.2.1. Notion de qualité.....	8
II.2.2. Système.....	8
II.3. Réglementation de la validation et sa structure.....	10
II.3.1. Réglementation de la validation.....	10
II.3.2. Structure de la validation analytique.....	10
II.4. Domaine d’application de la validation analytique.....	12
II.5. Critères d’application de la validation analytique.....	12
III. VALIDATION DE LA METHODE DE PRELEVEMENT ...	17
III.1. Principe.....	18
III.2. Détermination du rendement de récupération.....	18
IV – METHODE DE DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE.....	19
IV.1. Généralités sur la chromatographie haute performance.....	19
IV.2. Principe de la chromatographie liquide haute performance...	19
IV.3. Notions fondamentales.....	20
IV.3.1. Notion de temps.....	20
IV.3.2. Notion de concentration.....	21

IV.3.3. Notion d'efficacité.....	21
IV.3.4. Qualité de la séparation.....	21
IV.3.5. Notion de pression.....	22
IV.4. Appareillage.....	23
<u>DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL</u>	24
I – OBJECTIFS	25
I.1. Objectif général.....	25
I.2. Objectifs spécifiques.....	25
II – CADRE DE L'ETUDE	25
II.1. Historique.....	25
II.2. Présentation.....	26
III – MATERIEL ET METHODES	27
III.1. Matériel.....	27
III.1.1 Chromatographie liquide haute performance.....	27
III.1.2 Verrerie et petits matériels.....	27
III.1.3 Réactifs utilisés.....	28
III.2. Méthodes.....	28
III.2.1 Validation de la méthode analytique de dosage.....	28
III.2.2 Validation de la méthode de prélèvement.....	32
IV. RESULTATS	38
V. DISCUSSION	47
CONCLUSION	50
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	53

INTRODUCTION

Développer, fabriquer et commercialiser des produits sécurisés, efficaces et de haute qualité pour satisfaire et protéger les patients est une préoccupation permanente des entreprises pharmaceutiques.

De 1999 à 2006, les « warning letters » de la FDA relatives aux problèmes de nettoyage ont augmenté de 28 à 48%. Avec cette surveillance très stricte par les autorités réglementaires, l'importance accordée aux procédés de nettoyage a radicalement augmenté dans le domaine pharmaceutique.

Le nettoyage est considéré comme étant une étape critique du processus de production d'un produit pharmaceutique. La contamination des équipements de production peut provenir de tous les produits/solutions avec lesquels ils peuvent entrer en contact. Il est donc crucial d'abaisser les risques de contamination croisée entre deux lots de production d'un même produit ou deux lots de production de deux produits différents grâce à un nettoyage efficace et reproductible. C'est la raison pour laquelle, les Bonnes Pratiques de Fabrications (françaises, européennes et américaines) exigent que les équipements de production soient nettoyés méticuleusement grâce à des procédures associées validées. Au-delà de l'aspect purement conformité à la réglementation, la maîtrise des procédés de nettoyage est un point majeur dans la démarche d'amélioration continue pour une entreprise pharmaceutique [13].

Avec la mise en place des systèmes d'assurance qualité dans les laboratoires, la validation des méthodes d'analyse est aujourd'hui un objectif important et omniprésent, ces dernières sont les yeux et les oreilles pour tout produit manufacturés. Le résultat d'analyse est l'indicateur visible et le dernier verrou permettant de garantir la sécurité du patient [1].

C'est pourquoi, aujourd'hui, l'effort se porte plutôt vers la qualité métrologique des mesures ce qui se traduit par des exigences de validation des méthodes et d'estimation de l'incertitude accrues. De nombreux documents ont été publiés sous la forme de normes, de guides, de guidances ou même de textes réglementaires pour essayer de définir des procédures de validation.

La validation est définie dans plusieurs guides réglementaires internationaux comme la FDA, l'ICH, l'ISO et les BPL.

Malgré toutes ces exigences il existe encore de nombreuses zones d'ombre dans la définition, et en conséquence comment évaluer, les critères de performance de la validation analytique. Le meilleur exemple est celui des démarches statistiques alors qu'il existe plusieurs dizaines de mode de calcul qui conduisent tous sur des valeurs différentes. Ces critères soulèvent aussi des problèmes statistiques complexes qui n'ont pas toujours reçu de solutions satisfaisantes. C'est aux analystes qu'il incombe de poser correctement ces questions afin d'obtenir des réponses claires. C'est pourquoi, nous pensons que l'harmonisation des modes de calcul des critères de validation des méthodes représente une approche qui, à l'heure actuelle, permettra de mieux poser ces problèmes à savoir.

Donc Comment concevoir une procédure de validation de manière rationnelle, permettant non seulement de maîtriser la qualité du produit fini, mais également de mieux connaître les équipements et d'anticiper les éventuels problèmes pouvant subvenir ?

Quelle est alors la meilleure façon d'approcher la validation analytique et quels sont les points critiques à considérer afin d'aboutir à la réussite [9] ?

L'objectif principal de notre travail est donc de valider une méthode d'analyse spécifique à la validation de nettoyage pour la recherche de traces de Phénobarbital dans trois formes pharmaceutiques, Gardénal 50 et 100mg et Phénobarbital 100mg.

La mise au point de la méthode analytique de dosage nous permettra de mener aussi en parallèle à la méthodologie de prélèvement du phénobarbital pour la validation de nettoyage du nouveau train de granulation [20,21].

Première partie :
Généralités sur la validation de nettoyage
dans l'industrie pharmaceutique

I LE NETTOYAGE

I.1 Définition

« C'est l'ensemble des mesures prises pour l'élimination d'un produit dont la présence à l'état de traces dans un autre produit présente un risque mineur. » (Guide ASPEC. Gestion du risque de contamination croisée dans l'industrie pharmaceutique.)[2] (BAILLY.J, 2004)

I.2 Méthodes de nettoyage

Le nettoyage (détergence) met en œuvre un processus physicochimique selon lequel les salissures ou souillures sont détachées de leur substrat ou support et mises en solution ou dispersion. KLUGER et al définissent le nettoyage comme « un ensemble complexe de mécanismes physiques [...] survenant aux interfaces des trois phases : surface-souillure, souillure-détergent et détergent-surface ».

Le mécanisme de nettoyage peut être décomposé en 3 grandes étapes :

- le mouillage,
- le déplacement de la souillure (dispersion) et
- le maintien de la souillure à l'écart de la surface (stabilisation de la dispersion).

En réalité, ces différentes étapes ne se succèdent pas mais coexistent ensemble.

Trois grands types de nettoyage sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique.

• *Nettoyage manuel*

Ce type de nettoyage peut se définir comme le nettoyage direct d'un équipement à la suite d'une action mécanique par un opérateur utilisant des outils variés et des agents de nettoyage tels que : un nettoyeur haute pression, des têtes de nettoyage rotatives, brosses mécaniques ou manuelles, des appareils à sonication etc... Quels que soient les outils utilisés, le résultat obtenu, après nettoyage, est directement conditionné par la bonne application et le strict suivi

des procédures de nettoyage établies. Le réglage des paramètres de contrôle (pression, concentration, température, temps...) sont sous la seule responsabilité de l'opérateur [3 ;4], (CDER, 1998, Caporal.J et al, 1992).

• *Nettoyage automatique : nettoyage en place (NEP)*

Le nettoyage automatique est une opération qui consiste à nettoyer un équipement sans démontage préalable, par aspersion ou circulation d'un fluide, généralement piloté par un automate programmable. Les paramètres du nettoyage sont programmés dans l'automate permettant ainsi d'être reproductible. Les paramètres critiques à contrôler sont la concentration des détergents, le volume et le débit des solutions de rinçage et de lavage, la température et le temps de chaque étape [10] (CDER, 1998).

• *Nettoyage semi-automatique*

C'est un enchaînement d'opérations manuelles et automatiques (préparation des solutions détergentes, démontage partiel pour la mise en place de systèmes de lavage, pré-rinçages manuelles etc.) [3](Boulangier.B et al, 2000).

I.4. - Justificatifs du nettoyage

La contamination est la présence d'un élément indésirable dans un produit, un fluide, sur une surface ou dans un espace protégé. Cet élément entraîne des perturbations sur le plan de la qualité des produits et/ou de la sécurité des personnes. La perturbation peut être observée immédiatement ou se révéler ultérieurement [2] (BAILLY.J, 2004)

Elle est la résultante de trois éléments [2] ((BAILLY.J, 2004) :

- * les sources : matières étrangères au produit fabriqué mais provenant du même site de production ;
- * les vecteurs : supports ou moyens de véhiculer la contamination ;
- * les récepteurs : les produits fabriqués. Suivant la forme galénique, le degré de sensibilité aux contaminants est plus ou moins important.

La contamination est classé suivant la source (lié ou non à l'ambiance ou à l'environnement) et à la nature (contamination particulaire, microbiologique et chimique).

I.5. Procédures de nettoyage

Les procédures ont pour principal objectif de décrire et de standardiser les méthodes de nettoyage en réduisant les risques de dérives et d'assurer la reproductibilité.

La procédure de nettoyage doit contenir les points clefs suivants :

- objet : nettoyage des locaux, nettoyage des équipements,
- responsabilités : personnel, qualification et précautions particulières,
- niveau de propreté à atteindre : visuelle, chimique et microbiologique,
- description des équipements ou des surfaces générales à nettoyer et des zones critiques, matériels et agents de nettoyage utilisés, type de nettoyage, conditions d'emploi,
- mode opératoire détaillé : les modalités de prélavage, lavage, rinçage, les paramètres opératoires et les modes de prélèvements,
- validité du nettoyage : conditions d'entreposage du matériel et temps de validité au nettoyage, contrôles, vérifications, échantillonnage [14].

II - VALIDATION ANALYTIQUE

II.1. - Définition

Nous avons retenu comme définitions de la validation analytique celle des BPF, de la FDA et de la norme ISO :

• FDA : valider c'est établir, avec un degré de confiance élevée et sous une forme documentée, qu'un procédé déterminé permet d'obtenir un produit (ou service) qui atteint des spécifications définies à l'avance. [7] (FDA, 2004)

• BPF : la validation c'est l'établissement de la preuve, en conformité avec les principes de bonnes pratiques de fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de

conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés [11].

• ISO : la validation est la confirmation par examen et fourniture de preuves réelles que les exigences particulières d'un usage projeté donné sont remplies. [9] (Gnassou R, 2003)

II.2. - Validation et qualité

II.2.1. - Notion de qualité

La Qualité est définie par l'AFNOR (Association Française de Normalisation) comme étant : « *l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire les besoins explicites ou implicites d'un client ou des utilisateurs* ».

Ce concept général s'applique à tous les secteurs d'activité et concourt à la satisfaction du consommateur ou du patient. Appliquée au domaine pharmaceutique, cette notion équivaut à l'ensemble des facteurs qui contribuent à la sécurité, l'efficacité et l'acceptabilité des médicaments.

Chaque entreprise pharmaceutique se doit donc de concevoir et de mettre en œuvre une politique de qualité visant à garantir que les médicaments fabriqués présentent la qualité requise. Le patient est ainsi assuré de la qualité, à défaut d'être assuré par la qualité. Ce système ainsi mis en place couvre toutes les phases de développement du médicament : de sa conception à sa commercialisation.

Rappelons que pour la FDA « la validation représente pour une société une mesure de la compréhension qu'elle possède de son propre procédé et à le maintenir sous contrôle ». [7] (FDA, 2004)

II.2.2. – Système d'assurance qualité

Au sens général, pour assurer le maintien de la Qualité, l'Assurance Qualité peut se résumer en une démarche qui tend vers le zéro défaut ou Qualité totale.

Cette démarche prévient l'erreur ou le défaut, plutôt que d'avoir à le constater à posteriori. Selon le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF),

l'Assurance Qualité est définie comme « un large concept qui couvre tout ce qui, individuellement et collectivement, peut influencer la qualité d'un produit. Elle représente l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les médicaments fabriqués sont de la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés. »

Cette constatation a donné naissance au concept de « Qualité totale » (*fig.1*). [9](Gnassou.R, 2003).



Figure 1 : concept de la qualité totale

Par ce biais, le champ d'application du système d'AQ s'est élargi à la recherche, au développement, à la distribution, à l'approvisionnement et à la sous-traitance.

La validation analytique doit être considérée comme partie intégrante du procédé de fabrication puisqu'il s'agit d'une étape indispensable qui se trouve à la fin de la fabrication et au début de celle-ci. De plus, son rôle étant de rendre compte que les performances de la méthode permettent de répondre aux exigences de l'usage auquel elle est destinée, elle contribue à la qualité du produit final. Il sera donc couvert par l'AQ qui devra s'assurer de son efficacité et de sa reproductibilité à travers sa validation.

II.3. - Règlementation de la validation et sa structure

II.3.1. Règlementation de la validation analytique

Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est aujourd'hui largement répandu dans tous les domaines d'activité où des mesures sont réalisées. Cependant, cette question simple de l'acceptabilité ou non d'une procédure analytique pour une application donnée - reste toutefois inégalement et incomplètement résolue dans bien des cas, et ce malgré les diverses réglementations relatives aux Bonnes Pratiques (BPF, GMP...) et autres documents à caractère normatif (ISO, ICH, FDA...).

II.3.1. Structure de la validation analytique

La validation analytique, s'inscrit comme les autres validations, dans un cadre global de politique de validation. L'entreprise doit définir une politique générale de validation et d'orientation, ayant pour objectif premier l'assurance de la qualité et une meilleure maîtrise et compréhension de ses procédés.

La validation analytique intervient donc après que la validation du matériel (qualification) et du procédé ait été effectuée. Il est à noter cependant que la validation analytique peut être concomitante à la validation du procédé de fabrication, la validation analytique faisant partie intégrante du procédé.

Cependant pour des raisons de gestion documentaire, notamment dans le cas de sites multi-produits, la validation analytique peut faire l'objet de documents séparés (plan, protocole, rapport) et représentée dans la figure 2.

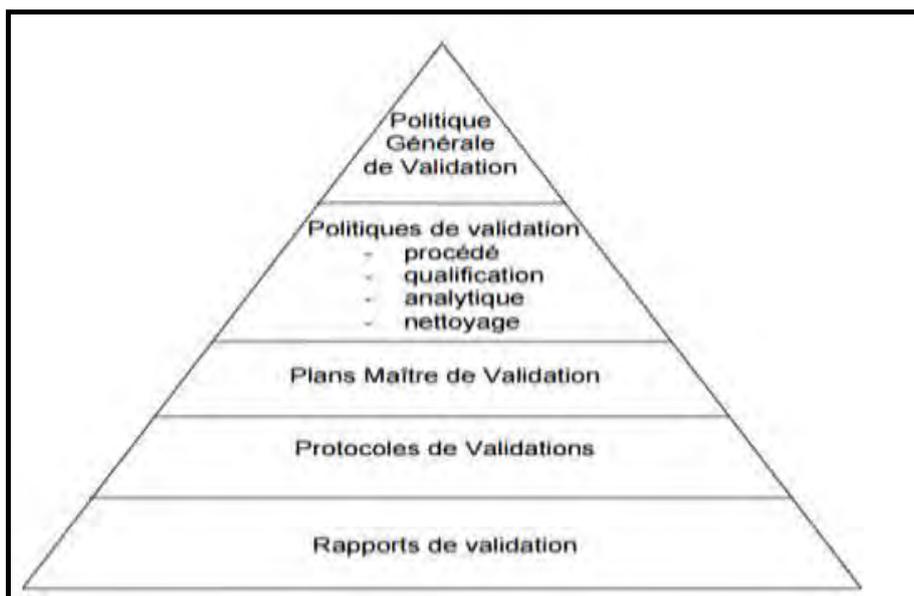


Figure 2 : Structure de la validation

* Un document opérationnel interne préparé conjointement par les opérateurs et les responsables, daté, référencé et approuvé

* Contenu d'un protocole :

- un titre explicite (univoque).
- la référence à une étude (codification).
- objectifs définis.
- introduction (liens à un projet) à des études antérieures à des études préliminaires.
- des références réglementaires.
- plan expérimental :
 - chronologique.
 - structure.
 - préparation des échantillons.
 - variables mesurées.
 - critères calculés.
- méthodes (Option) monographie ➡ méthodes ➡ d'analyses procédures.

Des précisions ou modifications spécifiques ou vérification

- Résultats.
 - quel support ?
 - quelle analyse statistique ?
 - outils de traitement ?
 - principe dans les arrondies
 - quelle synthèse /rapport
 - archivage.
- critères d'acceptabilité des résultats.
- rôle AQ/CQ.

II.4. – Domaine d'application de la validation analytique

- Domaine environnemental (polluants dans les eaux, les sols...).
- Domaine agro-alimentaire (sécurité des aliments...).
- Domaine pharmaceutique (contrôle qualité).
- Domaine médicolégal (cf. les experts...).
- Industrie en général (Qualité des résultats).

L'objectif du guide est donc de proposer une démarche harmonisée de validation applicable aux différentes procédures analytiques quantitatives, et ce indépendamment du secteur d'activité [5] (Chapuzet, E et al, 1997).

II.5. – Critères de la validation analytique

Le tableau I nous montre l'ensemble des paramètres à vérifier lors d'une validation analytique.

Tableau I : Critères de validation analytique

Type de tests Caractéristiques	Dosage	Impuretés		Identification	Dosage bioanalyse
		Quantitatif	Essais limites		
Juslesse	✓	✓			✓
Fidélité répétabilité	✓	✓			✓
Fidélité fidélité intermédiaire	✓	✓	✓	✓	✓
Spécificité Sélectivité	✓	✓	✓		✓
Limite de détection		✓	✓		✓
Limite de quantification		✓			✓
Linéarité	✓	✓			Fonction de réponse
Gamme	✓	✓			✓
Robustesse	✓	✓	✓		✓

II.5.1. – La sélectivité

La sélectivité d'une procédure analytique est sa capacité d'évaluation de façon univoque la substance à analyser, en présence d'autres composés susceptibles de l'accompagner. Ces composés comprennent typiquement les impuretés, les produits de dégradation et la matrice.

Selon la note explicative CEE/844/87 EN-FINAL aout 1989 SFSTP. Une procédure d'analyse est dite spécifique lorsqu'elle permet de mesurer quantitativement un paramètre physico-chimique ou un groupement fonctionnel d'une ou plusieurs substances présentes dans l'échantillon.

II.5.2. – La linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité, à l'intérieure d'un certain intervalle, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon.

II.5.3. – La justesse

SFSTP considère que l'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée, soit en valeur conventionnellement vraie (étalon de référence utilisé au sein d'une firme), soit comme valeur de référence (étalon international, substance de référence SCR par exemple), et la valeur moyenne qui est trouvée, obtenue en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois.

Selon ICH l'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée comme conventionnellement vraie, ou comme valeur de référence, et la valeur trouvée.

II.5.4. – La fidélité

La fidélité d'une procédure d'analyse exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites :

• *la répétabilité* : condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, les mêmes opérateurs, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement et le même lieu, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps.

• *la fidélité intermédiaire* : condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, le même lieu et des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une période de temps étendue, mais peuvent comprendre d'autres conditions que l'on fait varier

• *la reproductibilité* : condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires. [18] (VIM, 2008).

II.5.5. – La sensibilité

La sensibilité est la capacité de la procédure d'analyse à enregistrer de faibles variations de la concentration.

II.5.6. – La limite de détection (LD)

La limite de détection d'une procédure d'analyse est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimentales décrites de la procédure.

Plusieurs approches sont possibles pour déterminer la limite de détection (LD)

• Méthode de la ligne de base :

$$LD = 3h_{\max} \times R.$$

R = rapport signal /bruit

• Méthode de l'écart type :

$$LD = 3.3\sigma/b.$$

Où σ est :

- soit l'écart-type sur l'ordonnée à l'origine dans le tableau AVA des coefficients de régression ;

- soit la racine carrée de la variance résiduelle indiquée dans le tableau AVA du test de l'existence d'une pente significative.

Où b est la pente de la droite de régression.

• Méthode du blanc :

On mesure la réponse correspondant au « bruit de fond » analytique en analysant un nombre approprié d'échantillons à blanc et en calculant l'écart type des réponses obtenues.

$$LD = 3.3 \sigma_{\text{blanc}}/b.$$

σ_{blanc} : l'écart type du blanc.

II.5.7. – La limite de quantification (LOQ)

La limite de quantification est la plus petite quantité de l'analyse dans échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une exactitude définie.

Plusieurs approches sont possibles pour déterminer la limite détection (LD):

• *Méthode de la ligne de base :*

$$LQ = 10h \max x R$$

R = rapport signal /bruit

• *Méthode de l'écart type :*

$$LQ = 10 \sigma/b.$$

Où σ est :

- soit l'écart-type sur l'ordonné à l'origine dans le tableau AVA des coefficients de régression ;

- soit la racine carrée de la variance résiduelle indiquée dans le tableau AVA du test de l'existence d'une pente significative.

Où b est la pente de la droite de régression.

• *Méthode du blanc :*

$$LQ = 10 \sigma \text{ blanc}/b.$$

σ blanc : l'écart type du blanc.

II.5.8. – La robustesse

C'est la capacité d'une méthode d'analyse à rendre des résultats exacts en présence de faibles changements de conditions expérimentales susceptibles de se produire dans l'utilisation de cette procédure.

Elle donne une indication de la fiabilité de la procédure dans les conditions normales d'application.

III – VALIDATION DE LA METHODE DE PRELEVEMENT

III.1. Principe

La méthode consiste à contaminer une surface semblable à la surface à valider (acier inoxydable, silicone, téflon...) avec une quantité connue de produit, à récupérer le produit, le doser et le comparer à la quantité initiale déposée sur la surface.

La difficulté est de recréer au laboratoire des conditions similaires de souillure pour modéliser au mieux les conditions de prélèvement dans l'appareil.

Pour contaminer les plaques directement avec le produit, on peut procéder à sa mise en solution. Le principe actif doit être très soluble dans le solvant choisi. Ce dernier ne doit pas être incompatible avec la méthode d'analyse [19].

III.1.1. - Détermination du rendement de récupération (Rr)

Le rendement "combiné" (c'est à dire le rendement de récupération) peut être appliqué comme un facteur de recouvrement (R) ou de rendement dans les calculs. Ceci entraîne la compensation de l'impossibilité de la procédure de prélèvement de prélever et d'extraire effectivement 100% de contaminant résiduel recherché. Le rendement de récupération est effectué 3 fois sur 3 niveaux de concentration 50, 100 et 250% de la teneur de 10ppm

Le Rendement de prélèvement Rr est donné par la formule :

$$Rr = \frac{X}{m} \times 100\%$$

$$Rr = \frac{X}{m} \times 100\%$$

X (mg) : quantité de principe actif trouvée après extraction
m (mg) : quantité connue de principe actif déposé sur la plaque

Une étude du taux de recouvrement consiste à déposer une quantité connue de résidu contaminant en solution sur un support de prélèvement.

La surface est échantillonnée selon la méthode d'échantillonnage que l'on cherche à valider et l'échantillon obtenu est analysé par la méthode analytique validée.

Par série le coefficient de variation doit être $\leq 15\%$. La moyenne des séries sera retenue comme rendement de récupération.

Si le coefficient de variation des essais est supérieur à 15% le rendement retenu sera celui qui est le plus bas des essais. Il doit être utilisé pour ajuster les résultats analytiques obtenus afin de compenser le recueil incomplet des résidus et refléter ainsi la contamination potentielle.

La détermination du rendement d'extraction n'est effectuée que si le rendement de récupération est inférieur à 85% [19].

III.1.2. - Détermination du rendement à partir des essuyeurs contaminés (rendement d'extraction)

Le rendement obtenu à partir des essuyeurs contaminés est déterminé par la contamination de 6 essuyeurs à la concentration correspondant au 100% (norme des 10 ppm).

$$RE = \frac{m'}{m} \times 100\%$$

Avec m' = quantité de PA récupéré après extraction

m = quantité connue de principe actif déposé sur la chiffonnette.

Dans le cas où le rendement d'extraction serait inférieur à 90%, une optimisation de la phase d'extraction peut être faite en augmentant le temps d'extraction ou la quantité de solvant [19].

III.1.3. - Détermination du rendement à partir des plaques inox (rendement de prélèvement)

Le rendement à partir des plaques contaminées devrait être supérieur ou égal à 75% pour assurer qu'une représentation exacte de la propreté de la surface de la plaque est obtenue [19].

IV - METHODE DE DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

IV.1 Généralités

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre.

Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis, pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (CLHP).

Très rapidement, le terme P « pression » a été substitué par « performance » lorsque la technique a été optimisée (diminution de la taille de particules de la phase stationnaire, régularité de cette phase,...) [4] (.Caporal.J et al, 1992)

IV.2 Principe de la chromatographie liquide haute performance

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile entraînée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers de ce système.

Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne, les différents solutés sont identifiés à l'aide d'un détecteur connecté à un système informatique de traitement de données.

Le diagramme obtenu par chromatographie est appelé chromatogramme. Ce dernier traduit la variation d'un paramètre relié à la concentration du soluté en

sortie de colonne, en fonction du temps ou du volume d'élution. Chaque soluté détecté en sortie de colonne apparaît sur le chromatogramme sous la forme d'un pic communément appelé « pic chromatogramme » [4] (.Caporal.J et al, 1992)

IV.3 Notions fondamentales

La phase stationnaire est un support plus ou moins poreux recouvert d'un gel (liquide greffé) qui a les propriétés désirées pour retenir les molécules de solutés.

La phase mobile ou éluant est un liquide qui entraîne les solutés à travers la colonne [4] (.Caporal.J et al, 1992).

IV.3.1 Notion de temps de rétention

La *figure 3* représente un chromatogramme où :

- t_0 est le temps du début de l'injection ;
- le temps mort t_m est le temps mis par un composé non retenu par la phase stationnaire pour traverser la colonne (temps passé dans la phase mobile) ;
- le temps de rétention t_r est le temps mis par le soluté pour traverser la colonne. C'est le temps passé dans la phase stationnaire et dans le volume mort de la colonne.

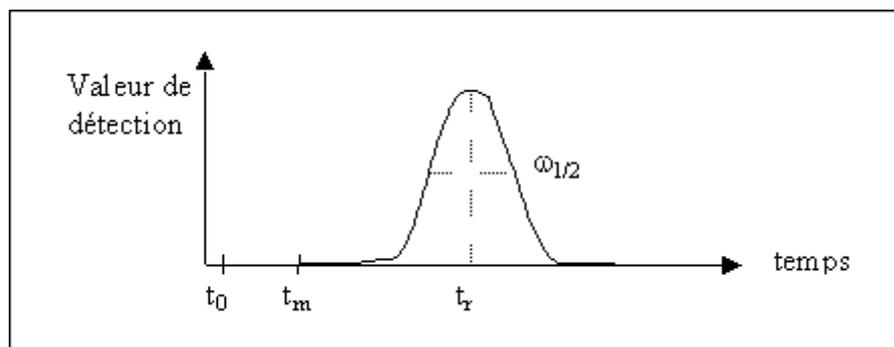


Figure 3 : Schéma d'un chromatogramme

Ce temps est caractéristique d'un soluté, dans des conditions d'analyse donnée. La surface du pic est fonction de la quantité du constituant dont il est la trace.

- le temps de rétention réduit t'_r est le temps passé par un soluté dans la phase stationnaire, soit : $t'_X = t_X - t_m$

IV.3.2 Le coefficient de distribution

A un instant donné, le soluté est à la concentration C_m dans la phase mobile et C_s dans la phase stationnaire. Leur rapport à l'équilibre est appelé coefficient de distribution K :

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

Ce coefficient est fonction de 3 types d'affinités :

- celle entre le soluté et la phase mobile ;
- celle entre le soluté et la phase stationnaire ;
- celle entre les phases mobile et stationnaire.

IV.3.3 Notion d'efficacité

La largeur d'un pic chromatographique est caractéristique de l'efficacité de la séparation : plus le pic est fin plus la chromatographie est efficace. L'efficacité est mesurée par le nombre de plateaux théoriques N_{th} avec :

$$N_{th} = 5,54 \left[\frac{t_r}{\omega_{1/2}} \right]^2$$

t_r : temps de rétention

$\omega_{1/2}$: largeur du pic à mi-hauteur (cf. *figure 3*)

IV.3.4 Qualité de la séparation

Elle peut être déduite d'une grandeur : la résolution (R).

Celle-ci quantifie la qualité de la séparation en caractérisant le fait qu'il y ait ou non chevauchement de 2 pics de solutés contigus.

La résolution entre deux solutés A et B est donné par la relation (*figure 4*) :

$$R = \frac{(t_{rB} - t_{rA})}{(\omega_{0B} - \omega_{0A})}$$

En fonction de la valeur de R, une conclusion peut être faite sur la qualité de la séparation :

$R < 1$: mauvaise résolution

$1 < R < 1,4$: résolution acceptable

$1,4 < R < 1,6$: résolution optimale

$R > 1,6$: résolution très bonne car le temps d'analyse est rallongé

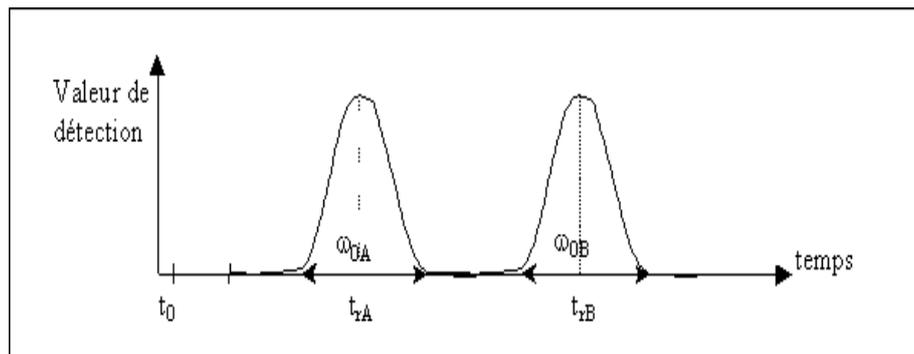


Figure 4 : Détermination de la largeur des pics pour le calcul de la résolution

IV.3.5 Notion de pression

A l'intérieur d'une colonne, la phase mobile frotte sur les parois de la colonne mais aussi sur les particules de phase stationnaire. Ces frottements définissent la résistance à l'écoulement. Les particules de phase stationnaire sont sphériques. Si l'on divise leur diamètre par 10, on diminue leur surface d'un facteur 100 et leur volume d'un facteur 1000.

On peut donc placer dans la colonne 1000 fois plus de particules et donc augmenter de 10 fois la surface en contact avec la phase mobile. La résistance à l'écoulement est donc augmentée.

IV.4. - Appareillage

La *figure 5* représente de manière schématique un système chromatographique.

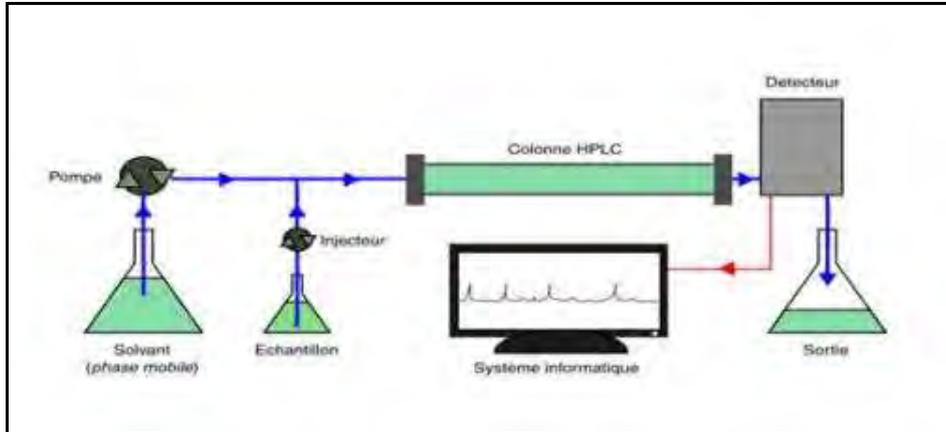


Figure 5: Schéma d'un dispositif de CLHP

La phase mobile est pompée et parcourt en permanence le chromatographe. La phase mobile et l'échantillon à analyser sont introduits en tête de colonne. La colonne est maintenue à température constante tout au long de l'analyse.

Le signal du détecteur est amplifié et enregistré.

Deuxième partie :
Travail expérimental

I - OBJECTIFS

I.1. Objectif général

Le but de notre travail était de valider le nettoyage d'un nouveau train de granulation.

I.2. Objectifs spécifiques

Spécifiquement, il s'agissait de :

- valider une méthode analytique de dosage de traces de phénobarbital par CLHP ;
- valider une méthode de prélèvement de traces de phénobarbital par CLHP.

II CADRE DE L'ETUDE

Notre étude a été effectuée à Winthrop Pharma Sénégal – groupe SANOFI.

SANOFI est une industrie pharmaceutique née en 2004 de la fusion-absorption entre les groupes Sanofi Synthélabo et Aventis Pharma.

C'est une société anonyme et fait partie d'un groupe mondial leader dans les sciences de la vie et qui est présente dans plus de 100 pays au monde.

Sanofi-Aventis est une entreprise pharmaceutique dynamique, ce qui explique qu'elle occupe la première place en Europe [20].

II.1. Historique

Située sur la route de Rufisque, l'usine de Dakar est implantée depuis 1973 sous le nom de SIPOA (Société Industrielle Pharmaceutique Ouest-Africaine). Elle appartenait à l'allemand Boehringer et à l'Etat sénégalais.

En 1989, Boehringer cédait une partie de ses actions à Rhône Poulenc Rorer qui devient l'actionnaire majoritaire.

En 1999, la longue fusion entre Rhône Poulenc Rorer et Hoeschst Marion Roussel donne naissance à Aventis Pharma.

Suite à la fusion-absorption de Sanofi Synthélabo et Aventis Pharma, elle devient Sanofi-Aventis en 2004 puis Africa Soins Production en 2006.

En 2009, elle est devenue Winthrop Pharma Sénégal- groupe Sanofi-Aventis.

Depuis Mai 2011, elle est devenue Winthrop Pharma Sénégal groupe SANOFI.

Son actionnariat est composé majoritairement de Sanofi-Aventis mais aussi de Pharmaciens privés, de Pharmaxansalt, du personnel et enfin, de l'Etat Sénégalais qui en détient 14%.

L'usine répond aux normes de qualité du groupe à travers le respect des conditions de travail de ses collaborateurs, la préservation de la santé de son capital humain et la protection de l'environnement sous toutes ses dimensions [17].

Les laboratoires pharmaceutiques Médis et Sanofi ont annoncé dans un communiqué publié le jeudi 13 avril 2017 le rachat des titres de Sanofi dans la société Winthrop Pharma Sénégal (WPS) par le groupe Médis.

II.2. Missions

Leader en Afrique de l'Ouest, Sanofi-Dakar est une industrie pharmaceutique du secteur secondaire chargée de fabriquer localement des médicaments de première nécessité et de mettre à la disposition des plus démunis des médicaments génériques de qualité.

Elle est présente sur les marchés privé et public avec un chiffre d'affaires de 70% de produits génériques et de 30% de spécialités, le tout destiné aussi bien au marché local qu'à l'exportation et se focalise sur trois formes pharmaceutiques :

- les comprimés : compression directe et granulation par voie humide ;
- les liquides buvables (sirops, suspensions) ;

- les préparations stériles pour usage parentéral.

Les locaux sont constitués par :

- le bâtiment administratif ;
- les zones de production (primaire et secondaire) ;
- le département informatique :
- la supplychain qui abrite le service logistique, le magasin et le service achat ;
- la maintenance ;
- le laboratoire de contrôle qualité [17].
- le bâtiment social qui regroupe l'assurance qualité et la cantine.

III. MATERIEL ET METHODES

III.1 Matériel

III.1.1 Chromatographie liquide haute performance

Le système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est le modèle waters, constitué d'une pompe, un injecteur automatique 2695 water (séparation module) un détecteur à barrettes de diodes le tout provenant de la maison de WATERS France.

III.1.2 Verrerie et petits matériels

- Agitateur magnétique,
- Balance étalonnée Mettler Toledo,
- Barreau d'agitation,
- Becher de 30 ml et 250 ml (classe A),
- Chiffonnette (DUR×55×55mm),
- Cuve à ultrasons,
- Eprouvette de 1000 ml (classe A),
- Etiquettes,
- Filtres de 0,45 µm,

- Fioles jaugées de 1000 ml, 100 ml, 50 ml, 25 ml et 10 ml (classe A),
- Flacons bruns de 80 ml,
- Gants en latex,
- Pincette d'eau purifiée,
- Pipettes jaugées de 1 ml et 20 ml (classe A),
- Plaques inox (10cm×10cm),
- Seringues à usage unique,
- Spatule,
- Vial HPLC de 2 ml.

III.1.3 Réactifs utilisés

- Acétonitrile,
- Acide phosphorique,
- Ethanol absolu,
- Méthanol,
- Phénobarbital (standard de travail),
- Potassium dihydrogène phosphate

N.B : les réactifs sont de qualité de principe actif.

Les solvants de qualité HPLC.

III.2 Méthodes

III.2.1 Validation de la méthode analytique de dosage

II.2.1.1. Préparations des solutions

• Tampon d'analyse

Un tampon de phosphate dipotassique pH 3,5 a été préparé de la façon suivante : 2,9g de phosphate dipotassique a été pesé et dissous dans un litre d'eau distillée. La solution a été transvasée dans un contenant approprié et le pH ajusté à l'aide d'acide phosphorique R à $3,5 \pm 0,1$.

• Préparation de solution témoin

Solution A

Dans une fiole jaugée de 25ml, peser environ 25mg de phénobarbital (standard de travail). Dissoudre et compléter au volume avec du méthanol.

La concentration est de 1,000mg/ml phénobarbital.

Solution B

Prélever 1ml de la solution A et transférer dans une fiole de 10mL, compléter au volume avec du méthanol.

La concentration est de 0,100 mg/ ml phénobarbital.

Solution de référence

Prélever 1 ml de la solution B et transférer dans une fiole de 100 ml, compléter au volume avec du méthanol. La solution de référence RS a une concentration de 0,001 mg/ ml phénobarbital.

• Préparation de solution essai

Dans une fiole jaugée de 25 ml, peser une quantité de poudre contenant 25mg de phénobarbital (43,75 mg). Dissoudre et compléter au volume avec du méthanol.

La concentration E0 est de 1,000 mg/ml phénobarbital.

Prélever 1 ml de E0 et transférer dans une fiole de 10 ml puis diluer au volume avec le méthanol : solution E.

La concentration de E est de 0,100 mg/ml Phénobarbital.

• Préparation de solution essai à 10 ppm

Prélever 1 ml de E0 et transférer dans une fiole de 100 ml, compléter au volume avec du méthanol.

• Calcul : détermination de la teneur

La quantité de phénobarbital en mg/Cp est donnée par la formule suivante :

$$\frac{AE}{AT} \times \frac{PT}{25} \times \frac{1}{10} \times \frac{25}{PE} \times \frac{10}{1} \times MM \times \frac{\text{titre étalon}}{100} = \frac{AE}{AT} \times \frac{PT}{PE} \times MM \times \frac{\text{titre étalon}}{100}$$

La quantité de phénobarbital en ppm est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{PT \times AE}{PEp \times AT} \times C_{ppm} \times \frac{\text{Titre}}{100}$$

Avec :

AE : Aire du pic de phénobarbital dans la solution essai
AT : Aire du pic de phénobarbital dans la solution témoin C
PT : Prise d'essai témoin en mg
PE : Prise d'essai échantillon en mg
MM : Masse moyenne de l'échantillon en mg
C_{ppm} : Concentration de la solution correspondante en ppm
PEp : Prise d'essai phénobarbital dans l'échantillon en mg.

II.2.1.2. Etalonnage

La concentration cible du standard d'étalonnage est de 100% de la teneur en principe actif attendue. Les standards d'étalonnage sont préparés de manière indépendante pour chacune des séries (3 jours).

II.2.1.3. Sélectivité

La sélectivité est vérifiée par rapport au solvant de récupération, chiffonnette et gants :

- mettre 5 ml de solvant de récupération dans un pilulier, introduire la chiffonnette et laisser reposer pendant 15 minutes ;
- récupérer la solution tout en pressant la chiffonnette contre la paroi ;
- se laver les gants avec le solvant de récupération ;
- analyser l'échantillon.

II.2.1.4. Justesse

Trois mesures indépendantes seront effectuées sur trois niveaux de concentrations, à 50, 100 et à 250% (les résultats sont à extraire de la linéarité).

II.2.1.5. Fidélité

La détermination de la fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire) se fait lors de la détermination du rendement de récupération.

II.2.1.6. Limite de détection

La limite de détection d'une méthode analytique est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimentales décrites. Il sera déterminé sur 6 concentrations (20, 50, 100, 150, 200 et 250%) de la cible des 10 ppm.

II.2.1.7. Limite de quantification

Le seuil de quantification est la plus petite quantité d'une substance dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites.

Il sera déterminé sur 6 concentrations (20, 50, 100, 150, 200 et 250 %) de la cible des 10 ppm.

II.2.1.8. Linéarité

Elle est effectuée sur 5 concentrations répétées sur trois jours : 50, 100, 150, 200 et 250 % de la teneur cible (norme des 10 ppm) du traceur sur des solutions standards.

La linéarité de la méthode est alors vérifiée sur une gamme de concentrations. Les solutions sont préparées avec le solvant de dilution.

Le **tableau II** présente l'ensemble des pesées à faire pour la préparation des différentes concentrations.

Tableau II : Préparation des solutions essais

Teneur (%)	20	50	100	150	200	250	Placébo
C (ppm)	2	5	10	15	20	25	NA
Quantité placebo (mg)	3,75	9,38	18,75	28,13	37,50	46,88	18,75
Quantité phénobarbital (mg)	5	12,5	25	37,5	50	62,5	NA
Prise d'essai de la forme reconstituée (mg)	8,75	21,88	43,75	65,63	87,50	109,38	18,75

II.2.1.9. Critères d'acceptation de la méthode analytique

La méthode analytique de la recherche de traces serait validée lorsque, pour les paramètres d'étude choisis (**tableau III**). Les résultats obtenus seront conformes aux spécifications.

Les résultats attendus pour chaque critère sont établis dans le **tableau III**.

Tableau III : Critères de validité de la méthode analytique

Rubriques	Résultats attendus
Validation méthode de recherche des traces ▶ Sélectivité	Il ne doit pas y'avoir d'interférence entre le Phénobarbital et : <ul style="list-style-type: none">• le solvant de récupération seul• le solvant de récupération + gants• le solvant de récupération et chiffonnette
▶ Limite de détection	$LD = 3.3 * (S/b)$ avec b la pente de la régression Linéaire, s l'écart-type de la pente
▶ Limite de quantification	$LQ = 10 * (S/b)$ avec b la pente de la régression Linéaire, s l'écart-type de la pente
▶ Linéarité	Coefficient de corrélation $r \geq 0,999$
▶ Justesse	La méthode est exacte si : La moyenne des rapports est entre 98 et 102%.
▶ Fidélité	$CV \leq 10\%$

III.2.2 Validation de la méthode de prélèvement

II.2.2.1. Détermination du rendement d'extraction

• Préparation de la solution mère (750 ppm) à 250 %

Peser 125,0 mg de phénobarbital et 37,5 mg de placebo dans une fiole jaugée de 50 ml, dissoudre et compléter au volume avec du méthanol. Prélever 30ml de la solution précédente, diluer à 100ml avec du méthanol.

• Préparation de la solution essai

- Couper l'essuyeur de façon à avoir des chiffonnettes 55x55mm
- Prélever 1ml de la solution de Phénobarbital et imbiber la chiffonnette;
- Mettre la chiffonnette dans un flacon de 60ml contenant 30ml de solvant de dilution;
- Passer aux ultra-sons
- Prélever 10ml de la solution à l'aide de seringue munie d'un filtre 0.45µm,
- Mettre dans les vials pour l'analyse.

L'expérience est répétée trois fois.

• Préparation de la solution témoin

Analyse de la solution de Phénobarbital à la norme des 10 ppm.

Calcul du rendement (R) :

$$R = \frac{AE \times PT \times 50}{AT \times PE \times Vp} \times 2 \times 100 \times \frac{T}{100}$$

R : Rendement en %

AE : Aire du pic phénobarbital de la solution à examiner

AT : Aire du pic phénobarbital de la solution témoin en mg

PT : Prise d'essai du Phénobarbital témoin

PE : Prise d'essai de l'échantillon de la solution mère en mg

VP : Volume prélevé pour les différentes préparations

T : Titre de l'étalon de travail

II .2.2.2. Détermination du rendement de récupération

Il sera effectué sur trois mesures quantitatives, à trois niveaux de concentration (50, 100 et 250 %).

• Préparation de la solution mère à 750 ppm

Confère préparation de la solution mère à 250% précédente pour la détermination du rendement d'extraction.

Tableau IV : Préparation des solutions essais à 50% et 100%

Teneur %	50	100
C (ppm)	150	300
V prélevé prendre (ml)	10	20
Solvant (ml)	qsp 50	qsp 50

• Préparation des plaques inox

- Préparer une plaque carrée (10cm×10cm) en acier inoxydable parfaitement nettoyée avec le détergent puis rincée avec de l'eau purifié et ensuite essuyée avec un sopalin imbibé d'éthanol.

- Répartir 1ml de la solution de phénobarbital à l'aide d'une pipette sur la plaque en inox, laisser sécher à l'air libre

- Prendre une chiffonnette à l'essuyage humide comme décrit ci-après dans la technique de prélèvement.

Un blanc est effectué en parallèle de la façon suivante :

- Répartir 1 ml de solvant pur sans ajout de PA avec une pipette sur une plaque inox identique et traitée de la même façon que la plaque précédente pour vérifier l'absence de réponse interférente.

• Technique de prélèvement

- Couper l'essuyeur de façon à avoir des chiffonnettes 55×55mm

- Préparer le flacon contenant 30 ml de solution de dilution

- Imbiber l'essuyeur avec le solvant de dilution

- Passer l'essuyeur selon le mouvement suivant (de gauche vers la droite) en appuyant modérément

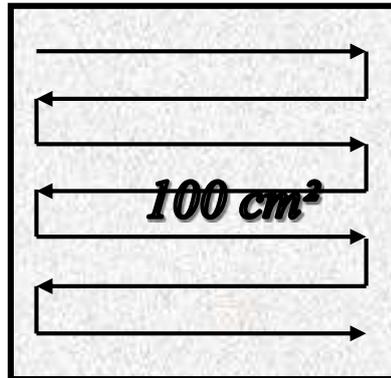


Figure 6 : Plaque inox de 100cm² (passage de la gauche vers la droite)

- Plier la chiffonnette en deux par le milieu en laissant la face déjà utilisée à l'intérieur :



Figure 7 : Chiffonnette pliée en deux par le milieu

- Refaire un deuxième passage selon le mouvement suivant (de bas en haut) en appuyant modérément :

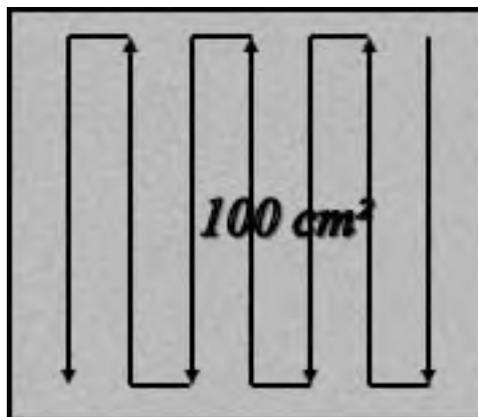


Figure 8 : Plaque inox de 100cm² (passage de bas en haut)

- Replier la chiffonnette en deux en laissant la face déjà utilisée à l'intérieur.

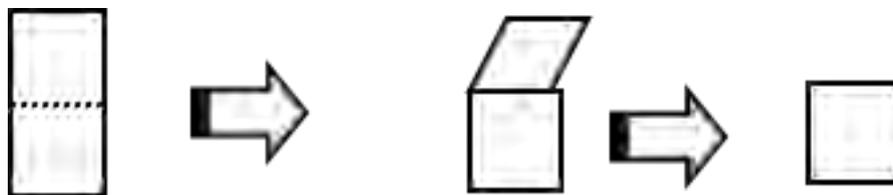


Figure 9 : Chiffonnette repliée

- Refaire un troisième passage selon le mouvement suivant (en oblique) en appuyant modérément

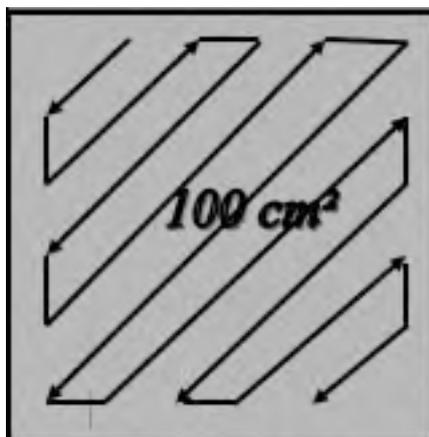


Figure 10 : Plaque inox de 100cm² (passage oblique)

- Placer la chiffonnette pliée dans un flacon de prélèvement
- Rincer les gants avec le solvant d'extraction afin de minimiser les pertes et procéder à l'extraction.
- Extraction.

Le flacon de prélèvement contenant la chiffonnette est rempli d'un volume de 30 ml de solvant, est passé aux ultra-sons pendant 5 mn minimum.

La solution est transvasée dans une seringue à usage unique munie d'un filtre 0.45 µm, puis mise dans les vials pour être analysée.

Le filtrat non utilisé pour l'analyse est conservé dans le flacon de prélèvement avec la chiffonnette à 5°C.

II.2.2.2. Stabilité des solutions de prélèvements

Des échantillons de prélèvement à 100 % seront conservés sur trois jours successifs pour voir la variation des résultats.

Deux conditions de stockage seront testées : à la température ambiante et au réfrigérateur (2 - 8°C).

II.2.2.3. Critères d'acceptation de la méthode de prélèvement

La méthode de prélèvement du phénobarbital est validée lorsque, pour les paramètres d'étude choisis (**tableau V**), les résultats obtenus seront conformes aux spécifications.

Les résultats attendus pour chaque critère sont établis dans le **tableau V**.

Tableau V : Critère de validité de la méthode de prélèvement

Rubriques	Résultats attendus
Recouvrement	R > à 50% : plus ou moins considéré comme acceptable
	R < à 50% : peut être utilisé avec une justification approuvée par l'assurance qualité
	Si R < à 70% la valeur du recouvrement devrait être utilisée comme un facteur de correction dans le calcul des résultats
	Si R > à 70 % aucun facteur de correction ne peut être appliqué.
▶ Stabilité	CV ≤ 2%

La mise au point de la méthode analytique doit être menée en parallèle à la méthodologie de prélèvement afin de concilier et de déterminer l'ensemble des facteurs influençant la pertinence du mode d'échantillonnage [19].

IV. RESULTATS

IV.1 Résultats de la méthode analytique de dosage du Phénobarbital dans Gardéнал 50mg

IV.1.1. Sélectivité

La **figure 11** représente les différents chromatogrammes de la sélectivité

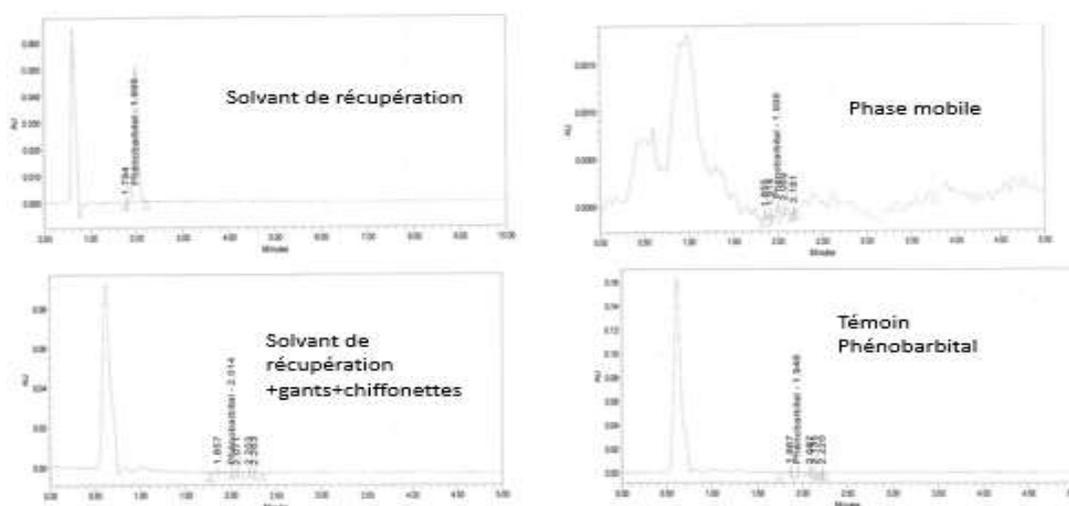


Figure 11 : Les chromatogrammes de la sélectivité

IV.1.2. Justesse

Le **tableau VI** montre la justesse des trois séries effectuées sur trois points, sur un interval de mesure de 50 à 250%.

Tableau VI : Justesse Séries 1 - 2 et 3

Série 1	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	100	100	250
Teneur en ppm	5	10	25
Série 2	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	100	100	250
Teneur en ppm	10	10	25
Série 3	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration	100	100	250
Teneur en ppm	10	10	25

IV.1.3. Fidélité

Le **tableau VII** montre la fidélité des trois séries effectuées sur trois points, sur un intervalle de mesure de 50 % à 250 %.

Tableau VII : Répétabilité et de la fidélité intermédiaire

Série 1	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	98	84	84
Teneur en ppm	4,9	8,4	21,0
Série 2	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	88	90	89
Teneur en ppm	4,4	9,0	22,2
Série 3	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	96	97	82
Teneur en ppm	4,8	9,7	20,6

IV.1.4. Limite de détection et de quantification

Le tableau montre la limite de détection et de quantification.

Tableau VIII : Limite de détection et de quantification

	Série 2					
	Essai 20%	Essai 50%	Essai 100	Essai 150%	Essai 200%	Essai 250%
Concentration %	90	102	101	101	101	101
Teneur en ppm	1,8	5,1	10,1	15,2	20,1	25,3

IV.1.5. Linéarité

La linéarité de la méthode de dosage du Gardénal 50 mg est représentée dans le **tableau IX**.

Tableau IX : La linéarité Séries 1, 2 et 3

	<i>Série 1</i>				
	Essai 50%	Essai 100%	Essai 150%	Essai 200%	Essai 250%
Concentration %	102	101	101	101	101
Teneur (ppm)	5,1	10,1	15,2	20,1	25,3
	<i>Série 2</i>				
	Essai 50%	Essai 100%	Essai 150%	Essai 200%	Essai 250%
Concentration %	98	101	99	99	98
Teneur (ppm)	4,9	10,1	14,9	19,7	24,6
	<i>Série 3</i>				
	Essai 50%	Essai 100%	Essai 150%	Essai 200%	Essai 250%
Concentration %	102	101	99	100	100
Teneur (ppm)	5,1	10,1	14,9	20,0	25,0

Les résultats obtenus, après injection de cinq concentrations différentes, permettent de tracer la droite de linéarité avec en ordonné la teneur en ppm et en abscisse l'intervalle de mesure de 50 à 250%.

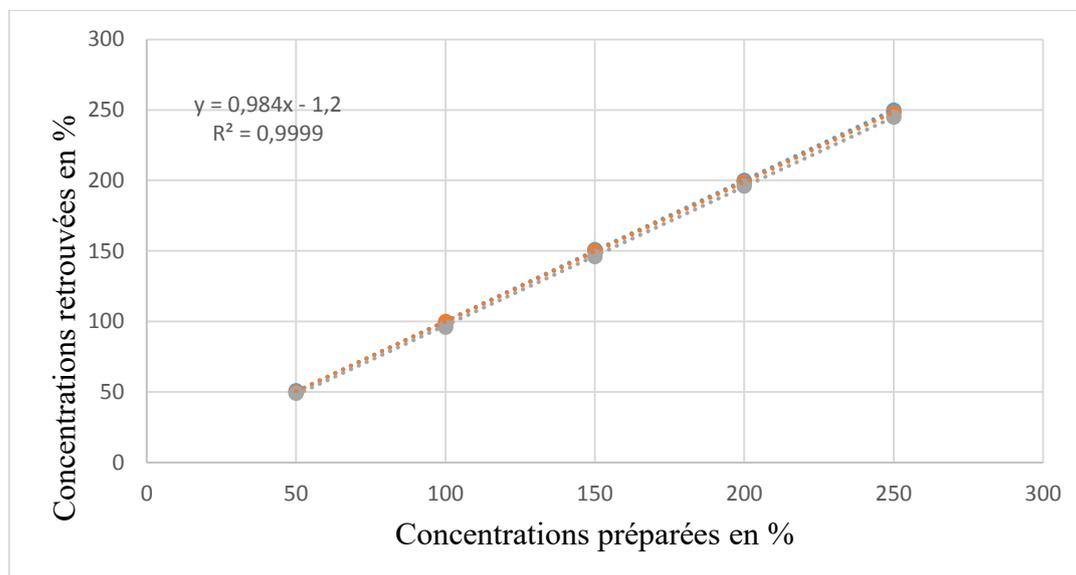


Figure 12 : Graphe de la linéarité de dosage du Phénobarbital dans le Gardéal 50mg

IV.2 Résultats de la méthode analytique de prélèvement du Phénobarbital dans Gardéal 50mg

IV.2.1. Rendement de récupération

Le **tableau X** montre les trois séries de prélèvement.

Tableau X : Recouvrements dans le Gardéal 50mg

Série 1	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	98	84	84
Teneur (ppm)	4,9	8,4	21,0
Série 2	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	88	90	89
Teneur (ppm)	4,4	9,0	22,2
Série 3	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	96	97	82
Teneur (ppm)	4,8	9,7	20,6

IV.2.2. Stabilité

Le **tableau XI** montre la stabilité des prélèvements au réfrigérateur (2-8°C) et à température ambiante.

Tableau XVIII : La stabilité des prélèvements dans le Gardéнал 50mg

	T0	T1	T2	T3	Moyenne	CV (%)
Aire échantillon frigo	292011	294883	293752	290423	292767,25	0,7
Aire échantillon ambiante	292011	290241	289574	291043	290717,25	0,4

IV.3 Résultats de la méthode analytique de dosage du Phénobarbital dans Gardéнал 100mg et Phénobarbital 100mg

IV.3.1. Sélectivité

Voir résultats de la méthode analytique de dosage du phénobarbital dans le Gardéнал 50mg.

IV.3.2. Justesse

Le **tableau XII** montre la justesse des trois séries effectuées sur trois points, sur un intervalle de mesure de 50% à 250%.

Tableau XII : Justesse Séries 1 - 2 et 3

Série 1	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	100	100	100
Teneur (ppm)	5	10	25
Série 2	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	100	100	100
Teneur (ppm)	5	10	25
Série 3	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	100	100	100
Teneur (ppm)	5	10	25

IV.3.3. Fidélité

Le **tableau XIII** montre la fidélité des trois séries effectuées sur trois points, sur un intervalle de mesure de 50% à 250%.

Tableau XIII : La répétabilité et la fidélité intermédiaire

Série 1	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	96	82	96
Teneur (ppm)	4,8	8,2	23,8
Série 2	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	90	87	96
Teneur (ppm)	4,5	8,7	24,0
Série 3	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	86	78	98
Teneur (ppm)	4,3	7,8	24,5

IV.3.4. Limite de détection et de quantification

Le **tableau XIV** montre la limite de détection et de quantification.

Tableau XIV : La limite de détection et de quantification

Série 2						
	Essai 20%	Essai 50%	Essai 100%	Essai 150%	Essai 200%	Essai 250%
Concentration %	105	102	99	101	100	100
Teneur (ppm)	2,1	5,1	9,9	15,1	20,0	25,0

IV.3.5. Linéarité

La linéarité de la méthode de dosage du Gardénal 100mg et Phénobarbital 100mg est représenté dans le tableau XV.

Tableau XV : La linéarité Séries 1, 2 et 3

Série 1					
	Essai 50%	Essai 100%	Essai 150%	Essai 200%	Essai 250%
Concentration %	102	99	101	100	100
Teneur (ppm)	5,1	9,9	15,1	20,0	25,0
Série 2					
	Essai 50%	Essai 100%	Essai 150%	Essai 200%	Essai 250%
Concentration %	100	100	100	96	99
Teneur (ppm)	5,0	10,0	15,0	19,9	24,8
Série 3					
	Essai 50%	Essai 100%	Essai 150%	Essai 200%	Essai 250%
Concentration %	98	96	97	98	98
Teneur (ppm)	4,9	9,6	14,6	19,6	24,5

Les résultats obtenus, après injection de cinq concentrations différentes, permettent de tracer la droite de linéarité avec en ordonné la teneur en ppm et en abscisse l'intervalle de mesure de 50% à 250%.

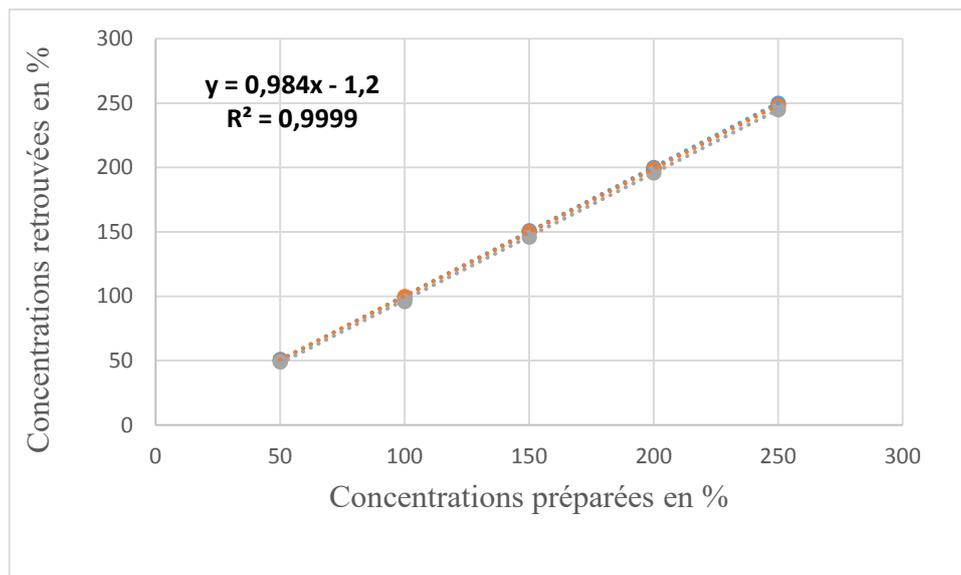


Figure 13 : Graphe de la linéarité de dosage du Phénobarbital dans Gardéнал 100mg et Phénobarbital 100mg

IV.4 Résultats de la méthode de prélèvement du Phénobarbital dans Gardéнал 100mg et dans Phénobarbital 100mg

IV.4.1. Rendement de récupération

Le tableau XVI montre les trois séries de prélèvement.

Tableau XVI : Recouvrements du Gardéнал 100mg et Phénobarbital 100mg

Série 1	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	96	82	96
Teneur (ppm)	4,8	8,2	23,8
Série 2	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	90	87	96
Teneur (ppm)	4,5	8,7	24,0
Série 3	Essai 50%	Essai 100%	Essai 250%
Concentration %	86	78	98
Teneur (ppm)	4,3	7,8	24,5

IV.4.1. Stabilité

**Tableau XVII : la stabilité des prélèvements dans le Gardénal 100mg
et Phénobarbital 100mg**

	T0	T1	T2	T3	Moyenne	CV
Aire échantillon frigo	270479	263552	275161	273659	270712,75	1,9
Aire échantillon T°C ambiante	270479	271369	272550	274727	272281,25	0,7

DISSCUSSION

V. DISCUSSION

V.1 Méthode analytique de dosage du Phénobarbital dans Gardéнал 50mg, 100 mg et Phénobarbital 100 mg

1. Sélectivité

La sélectivité est déterminée par une comparaison des chromatogrammes obtenus avec le solvant de récupération, le solvant de récupération + gants + chiffonnettes, une solution témoin contenant du phénobarbital et la phase mobile.

Le témoin présente un pic avec un temps de rétention à 210 nm de 1,996 min.

Par ailleurs, le solvant de récupération, le solvant de récupération + gants + chiffonnette et la phase mobile ne présentent pas de pics spécifiques à 210 nm.

Vu les résultats obtenus, nous pouvons conclure qu'il n'y a pas d'interférence entre le phénobarbital et le solvant de récupération, le solvant de récupération + gants + chiffonnettes. D'où la méthode est spécifique à l'identification et au dosage du phénobarbital dans le Gardéнал 50mg/Cp, Gardéнал 100mg/Cp et dans Phénobarbital 100mg/Cp.

2. Justesse

L'exactitude a été étudiée sur la base de la teneur en phénobarbital introduite et la teneur retrouvée sur différentes concentrations (50, 100 et 250%). La moyenne des recouvrements est conforme à la spécification, ce qui montre que la méthode est exacte sur l'intervalle de 50 à 250%.

3. Fidélité

La fidélité a été déterminée sur la base des résultats obtenus lors de la validation de la méthode de prélèvement du phénobarbital. Elle comporte la répétabilité et la fidélité intermédiaire avec un coefficient de variation de 5% dans Gardéнал 50mg et de 3% dans le Gardéнал 100mg et Phénobarbital 100mg.

Le coefficient de variation de la fidélité est conforme selon la norme décrite dans les spécifications. Ce résultat montre qu'il n'existe pas une grande variabilité

analytique quant à l'application de la méthode de dosage du phénobarbital dans Gardéнал 50mg, 100mg et dans Phénobarbital 100mg.

4. Limite de détection et de quantification

Les limites de détection et de quantification sont calculées à l'aide de la droite d'étalonnage, de la pente et de l'écart type par le logiciel MVA 2.1 selon les formules suivantes :

$$LD= 3.3 *(S/b)$$

$$LQ= 10 *(S/b)$$

Avec

b : la pente de la régression linéaire,

S : l'écart-type de la pente

Les limites de détection et de quantification équivalent à la concentration du phénobarbital sont respectivement de 2,4% et de 7,4% de la teneur cible soient 0,2 ppm et 0,7 ppm dans Gardéнал 50mg.

Elles sont de 3,2% et 9,6% soient 0,3 ppm et 1,0 ppm dans Gardéнал 100mg et Phénobarbital 100mg.

La spécification définie étant de 10ppm donc nous pouvons conclure que la méthode nous permet de quantifier jusqu'à la spécification.

5. Linéarité

Trois séries de mesures ont été effectuées sur 05 points, sur un intervalle de mesure de 50% à 250 % de la teneur théorique en phénobarbital (10ppm).

Le coefficient de corrélation ($r = 0,999$) des trois séries est conforme par rapport à la spécification ($r \geq 0,999$). Par conséquent la méthode de dosage du phénobarbital est linéaire dans l'intervalle de 50 à 250%.

V.1 Validation de la méthode de prélèvement du Phénobarbital dans le Gardénal 50mg, 100 mg et Phénobarbital 100 mg

Le rendement de récupération ($R = 90\%$) qui est supérieur à 70% donc aucun facteur de correction ne peut être appliqué sur les éventuels résultats des prélèvements.

Les coefficients de variation obtenus sont respectivement de (0,7 et 0,4) dans Gardénal 50mg et (1,9% et 0,7%) dans Gardénal 100mg et Phénobarbital 100mg. Ces résultats sont conformes par rapport à la spécification qui est de $CV \leq 2\%$. Suite à cette étude nous pouvons dire que les solutions de prélèvement sont stables au réfrigérateur ($2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$) et à la température ambiante au bout de trois (3) jours.

Tous les paramètres de validation sont conformes par rapport aux spécifications établies par la maison mère et aux exigences réglementaires de la FDA [20,21].

CONCLUSION

La maîtrise de la contamination en industrie pharmaceutique, en particulier de la contamination croisée, a pris une importance capitale au cours des dernières années, notamment lors de la fabrication de produit hautement actifs. Les moyens mis en œuvre peuvent être préventifs et concerner la conception des locaux, la maîtrise du milieu, la rédaction et l'application stricte de procédures contribuant à limiter les contaminations, ou curatifs : il s'agit des opérations de nettoyage. Ces opérations aussi doivent faire l'objet de procédure et tenir compte des sources de contamination et de zones critiques des équipements et surfaces concernés.

Le nettoyage est une étape primordiale dans la fabrication des médicaments. Il est présent depuis la pesée des matières premières jusqu'au conditionnement secondaire et au contrôle des produits fini. Une perte de maîtrise entrainera donc des baisses de productivité et une augmentation des couts de production. C'est pourquoi il ne doit pas être considéré comme un simple lavage

Comme pour tout autre opération pharmaceutique, les règlementations internationales exigent que l'efficacité des méthodes mises en œuvre soient garantie par la réalisation d'une validation. Cette dernière permet de garantir la qualité du produit et d'éviter une contamination que le contrôle qualité ne pourrait pas détecter sur le produit fini.

La démarche de validation de nettoyage doit être validée, et chaque soit justifié.

Les limites doivent être établies préalablement, et indépendamment des paramètres analytiques. Elles devront pouvoir être atteintes par des méthodes analytiques validées, et le résidu contaminant doit pouvoir être récupérer de façon adéquate et reproductible.

La validation de la méthode de dosage passe par l'évaluation de :

• la *sélectivité* : on a obtenu une bonne séparation des pics de l'échantillon et du standard qui présente un pic avec un temps de rétention à 210nm de 1,996 alors que l'échantillon ne présente pas de pics spécifiques à 210nm;

• la *linéarité* : la méthode s'est révélée linéaire avec un coefficient de corrélation $R = 0,999$;

• la *justesse* avec un taux de recouvrement de 100% ;

• la *fidélité* : la méthode est répétable avec un CV de répétabilité et de fidélité intermédiaire avec un coefficient de variation CV de 5% dans Gardénal 50mg et de 3% dans Gardénal 100mg et Phénobarbital 100mg ;

• la *limite de détection* (LD) : elle est faible et estimée à 2,4% et 3,2% soient 0,2ppm et 0,3ppm respectivement dans Gardénal 50mg et Gardénal 100mg ; Phénobarbital 100mg ;

• la *limite de quantification* (LQ) : elle est aussi faible et estimée à 7,4% et 9,6% soient 0,7ppm et 1,0ppm respectivement aussi dans Gardénal 50mg et Gardénal 100mg ; Phénobarbital 100mg.

Ces paramètres de validation ont été vérifiés, satisfaisants et intéressants. Il est donc possible d'utiliser de cette méthode à des fins d'analyse qualitative et quantitative.

Ainsi, cette méthode validée a été appliquée à l'analyse de la méthode de prélèvement dont le rendement de récupération est de ($R=90\%$) conforme par rapport à la spécification dans Gardénal 50mg que dans Gardénal 100mg et Phénobarbital 100mg.

La méthode que nous avons développée et validée utilise du méthanol comme solvant d'analyse très soluble pour l'échantillon et un tampon $pH= 3,5$ comme éluant.

La chromatographie liquide haute performance (CLHP) présente ainsi un intérêt majeur pour les laboratoires de contrôle qualité du fait de sa performance et de son efficacité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AIT-MIK N.**- Validation nettoyage appliqué à un équipement de granulation. *Thèse D. Pharm*, UCAD, 2007.
2. **BAILLY J.**- Stratégie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique. *PhD*. Université Claude Bernard, Lyon I, 2004.
3. **Boulangier B., Hubert Ph., Chiap P., Dewé W.**- Objectives of pre-study validation and decision rules. *AAPS APQ Open forum*, Washington, 2000.
4. **Caporal-Gautier J., Nivet J.M., Algranti P., Guilloteau M., Histe M., Lallier M., N'guyen-Huu J.J., Russoto R.**- Guide de validation analytique : Rapport d'une commission SFSTP. *STP Pharma Prat.*, 1992 : 205-226.
5. **Chapuzet E., Mercier N., Bervoas-Martin S., Boulangier B., Chevalier P., Chiap P., Grandjean D., Hubert Ph., Lagorce P., Lallier M., Laparra M.C., Laurentie M., Nivet J.C.**- Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques : stratégie de validation. *Rapport d'une commission SFSTP, STP Pharma Prat.*, 1997, 7 : 169-194.
6. **Commission des communautés européennes.**- Groupe de travail du comité des spécialités pharmaceutiques. *Note explicative III/844/87-FR*, final, Août 1989.
7. **Code of Federal Regulations.**- Parts 210 and 211, FDA, <http://www.fda.gov/cder/dmpq/cgmpregs.htm>, 2 janvier 2004.
8. **Food and Drug Administration.** - International Conference on Harmonization: Guideline on validation of analytical procedures: definitions and terminology. *Fed. Regist.* 1995, 60: 11260-11262.
9. **GNASSOU R.**- La validation des procédés de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : Méthodologie et application. *Thèse D Pharm.*, Toulouse 3; 2003.
10. **U.S. Department of Health and Human Services.** Guidance for Industry: Bioanalytical Methods Validation for Human Studies (Draft guidance), *Food and Drug Administration*, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Décembre 1998.

11. **La réglementation des médicaments dans l'union européenne** : Bonne pratique de fabrication. Médicament à usage humains et médicament vétérinaire, édition 1998, vol.4.
12. **NF EN ISO 17025**.- Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais. *ISO*, Genève, 2005.
13. **SENEAU A.**- La validation du nettoyage des équipements de production par le dosage du carbone organique total : *Th. D. Pharm*, Limoges, Décembre 2005.
14. **TINE.C.MB.**- Validation nettoyage manuel des équipements de production pharmaceutique : *Rapport de stage Master 2 Professionnel* (procédés de production Qualité et Contrôles des produits de Santé), Toulouse 2010.
15. **USP**. Validation of compendial assays - Guidelines, Pharmacopeial Forum. The *United States Pharmacopeia Inc.*, Rockville, MD, USA, 1986: 4129.
16. **USP**. *United States Pharmacopeia XXVI*, general information <1225>, Validation of compendial methods, The *United States Pharmacopeia Inc.*, Rockville, MD, USA, 2003 : 2439-2442.
17. **SECK M.**- Stratégie de validation nettoyage des équipements du site SANOFI-AVENTIS par une approche matricielle : Application sur le skid de filtration et de la pompe situés en zone injectable, *Mémoire de Fin d'Etudes*, ESP, 2008.
18. **Vocabulaire internationale de métrologie (VIM)** : *Concepts fondamentaux et généraux et termes associés*, 3^e édition, version 2008.
19. **Winthrop Pharma Sénégal (Groupe SANOFI)**, CQ. VAL.050 : Protocole de validation, 2016.
20. **Winthrop Pharma Sénégal (GROUPE SANOFI)**, Procédures internes : QOQG 010798 « cleaning validation »
21. **Winthrop Pharma Sénégal (GROUPE SANOFI)**, Procédures internes : QOQS 004705 « cleaning validation »

RESUME

La validation des méthodes figurent parmi les mesures universellement reconnues comme étant une partie indispensable d'un système exhaustif d'assurance qualité dans le domaine de l'industrie pharmaceutique. Valider une méthode d'analyse consiste à apporter la preuve qu'elle est adaptée aux objectifs que l'on s'est fixé.

A travers ce travail nous avons effectué une méthode analytique et de prélèvement pour la validation de nettoyage d'un nouveau train de granulation par chromatographie liquide haute performance.

L'analyse s'est faite en utilisant un tampon phosphate (pH 3,5) et du phénobarbital comme standard.

Les résultats obtenus ont mis en évidence une conformité de tous les paramètres étudiés au regard des spécifications établies par la maison mère.

La validation de la méthode analytique de nettoyage a été réalisée en termes de sélectivité avec une bonne séparation des pics chromatographiques, de linéarité entre 50% et 250% de la teneur cible des 10ppm ($R=0,999$), d'exactitude avec un taux de recouvrement de 100%, de fidélité avec un CV variant entre 3%-5%, de limite de détection ($LD=0,2\text{ppm}$ et $0,3\text{ppm}$) respectivement dans Gardéal 50mg et Gardéal 100mg, Phénobarbital 100mg et de quantification ($LQ=0,7\text{ppm}$ et $1,0\text{ppm}$). Le rendement de récupération est de 90% supérieur à 70% d'où aucun facteur de correction ne peut être appliqué sur les résultats des prélèvements. Les solutions de prélèvement sont stables au réfrigérateur ($2^{\circ}\text{C}-8^{\circ}\text{C}$) et à la température ambiante au bout de trois (3) jours avec des coefficients de variations conformes par rapport à la spécification ($CV \leq 2\%$).

Mots clés : Industrie pharmaceutique, Qualité, Nettoyage, Validation

Auteur : Ousmane GUEYE

Directeur : Pr Serigne Omar SARR, Professeur Titulaire

Abstract

Method authentication appears among the universally recognized measures as an integral part of a complete system of quality assurance within the pharmaceutical industry field. To Validate an analytical method consist in proving that it is adapted to the objectives that one has set

Through this work we have done an analytical method and a swab for the cleaning validation of a new granulation train by high performance liquid chromatography.

The analysis was done using a phosphate buffer (pH 3.5) and phenobarbital as standard

The results obtained revealed a conformity of all studied parameters against the specifications established by the parent company.

The validation of the analytical cleaning method has been made in terms of selectivity with a good separation of chromatographic peaks, linearity between 50% and 250% of the target content of 10ppm ($R = 0.999$), accuracy with a rate of 100% recovery, fidelity with a CV varying between 3% -5%, detection limit ($LD = 0, 2\text{ppm}$ and 0.3ppm) respectively in Gardenal 50mg and Gardenal 100mg, Phenobarbital 100mg and quantification ($LQ = 0,7\text{ppm}$ and 1.0ppm)

The recuperation yield is 90% higher than 70% hence any factor can be applied on the result sampling results. The collection solutions are stable in the refrigerator (2°C - 8°C) and at room temperature after three (3) days with coefficients of variation appoved as opposed to the specification ($CV \leq 2\%$).

Keywords: Pharmaceutical industry, Quality, Cleaning, Validation

Author: Ousmane GUEYE

Director: Pr Serigne Omar SARR, Full Professor: