

EDWIGE  
BLANGER,  
consultant chez  
Aktehom



© Aktehom Consultante

**VALIDATION DES PROCÉDÉS DE NETTOYAGE** LE CARACTÈRE VISUELLEMENT PROPRE DU MATÉRIEL EST UNE CONDITION NÉCESSAIRE MAIS PAS SUFFISANTE POUR ÉTABLIR LA CONFORMITÉ DES OPÉRATIONS DE NETTOYAGE. LES MÉTHODES DE PRÉLÈVEMENT ET D'ANALYSE DES CONTAMINANTS, AU CŒUR DE LA VALIDATION, SOULÈVENT DE NOMBREUSES QUESTIONS SUSCEPTIBLES DE REMETTRE EN CAUSE LEUR VALIDITÉ.

# Prélèvements et analyses soulèvent des questions

↓ Deux méthodes de prélèvement sont principalement utilisées. Le prélèvement par écouvillonnage, technique préconisée qui permet de cibler les surfaces de l'équipement les plus difficiles à nettoyer et le prélèvement par eau de rinçage qui donne une vision globale de la contamination résiduelle d'un équipement. Le choix de la méthode de prélèvement est souvent fonction de la nature des résidus recherchés. En effet, il sera judicieux de rechercher les produits très solubles dans les eaux de rinçage alors que l'écouvillonnage sera plus représentatif des résidus organiques adhérents aux surfaces des équipements. La décision doit se faire au cas par cas en considérant tous les aléas potentiels liés à chaque technique (ie : relavage d'éléments par l'écouvillon). Exigence réglementaire [1], la détermination du taux de recouvrement permet de valider les techniques de prélèvement en mesurant avec précision la quantité de contaminant pouvant être récupérée. En pratique, son interprétation n'est pas codifiée et donne lieu à une diversité des pratiques. Un taux de recouvrement inférieur à 50 % remet généralement en cause la méthode de prélèvement ou la technique de prélèvement. S'il est compris entre 50 % et 70 %, il peut être nécessaire d'appliquer un facteur de correction aux résultats analytiques obtenus. Faut-il également réaliser des études de recouvrement pour quantifier le bioburden présent à

la surface de l'équipement? Tout dépend de la signification du terme « recouvrement ». Au sens de la procédure USP <1227> [2], le concept de recouvrement microbien consiste à vérifier que la méthode de prélèvement et de traitement de l'échantillon n'inhibe pas la croissance microbienne. Cependant, il ne semble pas judicieux de déterminer un réel taux de recouvrement en raison de la variabilité inhérente à la numération biologique. Pendant l'exercice de validation, il arrive régulièrement que l'inspection visuelle des surfaces de l'équipement soit conforme mais que des résidus soient visibles sur l'écouvillon. Est-ce que cela doit remettre en question la validité de l'essai ? Dans les faits, il n'est pas possible d'apporter une réponse univoque sur ce point. Tout d'abord, il faut comprendre que le nettoyage de l'équipement ne signifie pas l'élimination totale des résidus. Des résidus peuvent donc être présents sur l'équipement, mais à des concentrations difficilement détectables par l'œil humain. L'écouvillonnage de l'équipement va alors « concentrer » les résidus sur l'écouvillon, rendant ainsi la contamination visible. Ensuite, il est possible que les résidus soient uniquement visibles sur des surfaces humides et non sur des surfaces sèches. Si la quantification des résidus est conforme aux spécifications, la présence de résidus visibles sur l'écouvillon ne doit pas remettre en cause la validité de l'essai. Des traces brun rouge peuvent quelquefois être obser-

vées, suite à l'écouvillonnage des surfaces des équipements en acier inoxydable ou dans les eaux de rinçage. Elles correspondent généralement à une corrosion due à une dégradation de la couche passive présente à la surface du métal. Si la présence de résidus métalliques est confirmée par l'analyse, leur concentration et/ou leur toxicité intrinsèque peut remettre en cause la conformité du nettoyage ou même l'utilisation de l'équipement. À noter également que les méthodes analytiques ne permettent de détecter que ce que l'on recherche. Il est donc possible que des résidus soient visibles sur l'écouvillon mais non détectés lors de l'analyse. Il faut alors challenger la pertinence des méthodes employées.

## Le choix crucial des méthodes d'analyses

Faut-il utiliser des méthodes d'analyses spécifiques ou non spécifiques pour quantifier la contamination résiduelle ? La réponse est sujette à controverses. Les méthodes non spécifiques (ex : mesure de conductivité, dosage du COT) sont simples à mettre en œuvre et permettent une quantification globale de la contamination. Il peut être judicieux, par exemple, d'évaluer les résidus d'agents de nettoyage par des mesures de conductivité [3] de l'eau de rinçage. Cependant, ces méthodes ne permettent pas de doser précisément un composé, contrairement aux méthodes spécifiques (ex : chromatographie, méthodes biochimiques), généra-

lement plus coûteuses et plus complexes. La spécificité de la méthode d'analyse est donc fonction de la nature du traceur recherché. Pour les molécules biologiques, du fait de la sensibilité relative de certaines méthodes spécifiques d'analyse, le dosage du COT peut être préféré car le résultat obtenu couvrant l'intégralité des produits organiques, sera « surpondéré », par rapport à la quantité de résidu de produit réellement présent à la surface de l'équipement. Côté réglementaire, les deux types de méthodes sont acceptables, à condition que les techniques d'analyse soient validées et que les limites de détection/quantification soient adaptées au seuil de contamination maximale défini. Dans tous les cas, le critère d'acceptation doit être établi indépendamment de la limite de quantification. C'est la méthode d'analyse qui doit s'adapter au seuil de contamination toléré et non l'inverse. Au-delà de son caractère contraignant, la validation des procédés de nettoyage peut s'avérer complexe au regard des aléas potentiels liés aux prélèvements et aux analyses. Le choix des différentes méthodes retenues doit se faire en prenant en compte les spécificités des résidus recherchés et la pertinence des techniques utilisées pour leur quantification. ■

[1] Guide to Inspections Validation of Cleaning Process.

[2] USP 1227 « Validation of Microbial Recovery from Pharmacopoeial Articles ».

[3] USP 645 « Water conductivity ».



Cet article est proposé par la société AKTEHOM, cabinet de conseil et d'expertise, qui accompagne les industriels de la pharmacie et des biotechnologies dans la maîtrise de leurs procédés de fabrication et dans la compréhension du produit et du procédé dans un objectif qualité permettant de garantir la sécurité du patient. AKTEHOM s'oriente depuis sa création dans l'apport de valeur ajoutée à ses clients pour leur permettre d'intégrer les évolutions techniques, réglementaires, scientifiques et humaines.

[www.aktehom.com](http://www.aktehom.com)