



**HAL**  
open science

# Système de revue des validations de méthodes analytiques : application aux substances actives d'un site fabricant de matières premières à usage pharmaceutique

Hugo Magrin

## ► To cite this version:

Hugo Magrin. Système de revue des validations de méthodes analytiques : application aux substances actives d'un site fabricant de matières premières à usage pharmaceutique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02328133

**HAL Id: dumas-02328133**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02328133>**

Submitted on 23 Oct 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Thèse pour l'obtention du DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par Hugo MAGRIN

Né le 18 août 1993 à Bordeaux

Le 05 juillet 2019 à Bordeaux

**Système de revue des validations de méthodes  
analytiques :  
Application aux substances actives d'un site fabricant  
de matières premières à usage pharmaceutique**

Sous la direction du Docteur Alexandra Gaubert

## Jury

Mme Karen Gaudin	Professeur	Présidente
Mme Alexandra Gaubert	Docteur en Pharmacie et maître de conférences	Directrice
Mme Marie-Hélène Langlois	Docteur en Pharmacie et maître de conférences	
Mme Isabelle Dumas	Experte Qualité Sanofi Chimie Aramon	Examineurs
Mme Sandrine Latmiral	Responsable Adjointe Service Contrôle Qualité Sanofi Chimie Aramon	

## Table des matières

<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>3</b>
<b>ABRÉVIATIONS</b> .....	<b>4</b>
<b>TABLE DES FIGURES</b> .....	<b>6</b>
<b>TABLE DES TABLEAUX</b> .....	<b>7</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>8</b>
<b>PARTIE I : VALIDATION DES MÉTHODES ANALYTIQUES</b> .....	<b>10</b>
1. GÉNÉRALITÉS .....	10
a) Définition et importance de la validation des méthodes analytiques .....	10
b) Place dans le processus de fabrication des substances actives .....	11
c) Contexte réglementaire.....	13
d) Cycle de vie des méthodes analytiques.....	17
2. REVUE DES VALIDATIONS DE MÉTHODES ANALYTIQUES.....	19
a) Accord entre la validation et la méthode de routine.....	19
b) Les paramètres de validation selon l'ICH Q2(R1) et ANVISA .....	20
c) Paramètres supplémentaires s'inscrivant dans le système d'assurance qualité .....	36
3. LE PLAN DIRECTEUR DE VALIDATION.....	44
4. CONCLUSION .....	46
<b>PARTIE 2 : APPLICATION À UNE REVUE PÉRIODIQUE DE VALIDATION DES MÉTHODES ANALYTIQUES SUR UN SITE FABRICANT DE SA À USAGE PHARMACEUTIQUE</b> .....	<b>48</b>
1. REVUE DES OOS ET DES DEMANDES DE MODIFICATION DES MONOGRAPHIES SUR L'ANNÉE 2017 .....	49
a) Revue des OOS .....	49
b) Revue des demandes de modification des monographies .....	50
2. MISE EN PLACE D'OUTIL DE TRAÇABILITÉ DE LA DOCUMENTATION ET DE MUTUALISATION DES DONNÉES DE VALIDATION ANALYTIQUE .....	51
3. MISE EN PLACE DE GRILLE DE SCREENING POUR L'ÉVALUATION DES VALIDATIONS DES MÉTHODES ANALYTIQUES ET CRITÈRES ÉVALUÉS SUR LE SITE .....	58
a) Spécificité .....	58
b) SD/SQ .....	58
c) Linéarité .....	59
d) Fidélité.....	59
e) Exactitude .....	59
f) Robustesse / Stabilité des solutions .....	60

4.	LES DIFFÉRENTS PARAMÈTRES ÉTUDIÉS POUR LES REVUES INDIVIDUELLES DES VALIDATIONS ANALYTIQUES.....	60
5.	ETAT DES LIEUX DES ÉCARTS ET PLANS D'ACTION MIS EN PLACE SUITE À LA REVUE DES VALIDATIONS DES MÉTHODES ANALYTIQUES.....	62
a)	Seuil de Détection / Seuil de Quantification.....	63
b)	Exactitude .....	63
c)	Stabilité des solutions et robustesse.....	63
d)	Fidélité : précision intermédiaire .....	63
e)	Revalidation complète.....	64
f)	System suitability test.....	64
g)	Linéarité / Spécificité / Qualification des appareils / Standards .....	64
6.	REVUE DE VALIDATION D'UNE MÉTHODE ANALYTIQUE .....	65
a)	Méthode analytique.....	65
b)	Revue de la méthode analytique .....	66
c)	Les plans d'actions identifiés .....	69
7.	REVALIDATION DE LA MÉTHODE DU PRODUIT 4 ET OUVERTURE D'UNE DÉVIATION.....	70
d)	Paramètres étudiés et critères d'acceptation.....	70
e)	Conditions opératoires .....	71
f)	Validation de la méthode.....	72
g)	Bilan sur la validation .....	85
h)	Etude des colonnes des autres méthodes portant sur les solvants résiduels .....	85
	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>87</b>
	<b>TABLE DES ANNEXES.....</b>	<b>88</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>152</b>

## Remerciements

### **À Alexandra Gaubert, directrice de thèse**

Je vous remercie de m'avoir accompagné tout le long de la rédaction de ce document ainsi que pour avoir répondu à toutes mes questions. Je vous remercie également pour votre relecture méticuleuse et l'aide que vous m'avez apportée pour la rédaction de cette thèse. Merci également pour vos enseignements tout au long de mon cursus et votre disponibilité.

### **À Karen Gaudin, présidente du jury**

Je vous remercie de présider mon jury, merci pour la qualité de vos enseignements tout au long de mon cursus de pharmacie et durant le master 2. Vos cours sur les validations analytiques m'ont été d'une grande aide pour aborder ce sujet avec sérénité.

### **À Isabelle Dumas et Sandrine Latmiral, Membres du jury**

Je vous remercie pour m'avoir accompagné sur ce sujet en entreprise, donné de votre temps et partagé votre savoir. Merci pour votre accompagnement et vos réponses qui m'ont permis de m'enrichir à la fois humainement et professionnellement. Merci également pour avoir accepté de faire partie de mon jury.

### **À Marie-Hélène Langlois, Membre du jury**

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury, pour vos enseignements et travaux pratiques en chimie analytique depuis la deuxième année de pharmacie. Merci également pour la qualité de vos cours sur les pharmacopées que j'ai pu mettre en application tout le long de mon alternance.

### **À toute ma famille ; mon Père, Pierre ; ma Mère, Aline et mon frère, Léo**

Merci de m'avoir accompagné toutes ces longues années d'étude et de m'avoir donné la force de continuer jusqu'au bout.

### **À Arapana**

Merci de toujours être là pour moi, dans les bons et les mauvais moments. Sans toi je n'en serais pas là.

### **À mes amis de pharmacie, de M2 et d'ailleurs**

Merci pour ces belles années estudiantines passées à vos côtés.

## Abréviations

**ANVISA** : *Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria* ou Agence nationale de vigilance sanitaire

**BPF** : Bonnes Pratiques de Fabrication

**CoA** : Certificat d'Analyse

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse

**DEQM** : Direction Européenne de la Qualité du Médicament et soins de santé

**GDP** : Groupe de Discussion des Pharmacopées

**GMP** : *Good Manufacturing Practices* ou bonnes pratiques de fabrication

**ISPE** : *International Society of Pharmaceutical Engineering* ou société internationale d'ingénierie pharmaceutique

**KF** : Karl Fischer

**LIMS** : *Laboratory Information Management System* ou Système de gestion de l'information du laboratoire

**MP** : Matière Première

**MPUP** : Matière Première à Usage Pharmaceutique

**OOS** : *Out Of Specification* ou résultat hors spécification

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**OS** : *Official Standard* ou standard officiel

**OVAT** : *One Variable At A Time* ou une variable à la fois

**Ph. Eur.** : Pharmacopée Européenne

**PSO** : Produit Semi-Ouvré

**PS** : *Primary Standard* ou standard primaire

**QC** : Qualification de Conception

**QI** : Qualification d'Installation

**QO** : Qualification Opérationnelle

**QP** : Qualification de Performance

**PDV** : Plan Directeur de Validation

**RDC** : *Resolution of the Collegiate Board of Directors* ou comité collégial de direction

**RM** : *Reference material* ou standard de référence

**SA** : Substance Active

**SD** : Seuil de Détection

**SFSTP** : Société Française des Sciences Techniques et Pharmaceutiques

**SQ** : Seuil de Quantification

**USP** : *United States Pharmacopeia* ou pharmacopée américaine

**WS** : *Working Standard* ou solution standard

## Table des figures

Figure 1 : Points de contrôle lors de la fabrication d'une substance active .....	11
Figure 2 : Cycle de vie des méthodes analytiques.....	17
Figure 3 : Représentation des différents niveaux de fidélité .....	29
Figure 4 : Flux des OOS/OOT .....	38
Figure 5 : Plan directeur de validation : approche de validation .....	45
Figure 6 : Etapes de mise en place d'un système de revue de validation des méthodes analytiques sur un site MPUP .....	48
Figure 7 : Etat des lieux des causes racines des OOS sur l'année 2017 .....	49
Figure 8 : Etat des lieux des demandes de modification.....	50
Figure 9 : structure de l'outil de mutualisation des données Sharepoint .....	56
Figure 10 : Méthodologie d'incrémentation des outils .....	57
Figure 11 : Paramètres étudiés pour les revues individuelles des validations des méthodes analytiques .....	61
Figure 12 : Etat des lieux des écarts suite à la revue des validations des méthodes analytiques .....	62
Figure 13 : Structure chimique du produit 4 .....	70
Figure 14 : Droites et diagrammes des résidus obtenus pour le test de linéarité .....	76
Figure 15 : Etude des colonnes et des concentrations des témoins des méthodes de détermination des solvants résiduels .....	86

## Table des tableaux

Tableau 1 : Paramètres à valider en fonction du type de méthode analytique (4) .....	14
Tableau 2 : Paramètres pouvant être étudiés pour démontrer la robustesse d'une méthode .....	33
Tableau 3 : Exemple de SST pouvant être mis en place pour les méthodes non chromatographiques .....	41
Tableau 4 : Structure de l'outil de traçabilité de la documentation des validations analytiques .....	52
Tableau 5 : Classes de solvants selon la Ph. Eur.(29) .....	65
Tableau 6 : Spécifications pour les solvants utilisés .....	66
Tableau 7 : Critères d'acceptation utilisés pour la validation de la méthode .....	70
Tableau 8 : Résolution entre les pics pour la solution T2 .....	72
Tableau 9 : Seuils de détection et de quantification calculés et proposés.....	73
Tableau 10 : Coefficients de variation et moyennes obtenues sur les 6 injections au SQ .....	73
Tableau 11 : Résultats obtenus pour le test de linéarité .....	77
Tableau 12 : Etude de l'exactitude de la méthode pour les différents solvants étudiés .....	77
Tableau 13 : Etude de l'effet matrice.....	78
Tableau 14 : Etude de la répétabilité de l'injection.....	79
Tableau 15. Etude de la répétabilité.....	79
Tableau 16 : Etude de la précision intermédiaire .....	80
Tableau 17. Etude de la reproductibilité.....	81
Tableau 18 : Etude de la stabilité des solutions .....	82
Tableau 19 : Etude de robustesse des paramètres CPG .....	83
Tableau 20 : Etude de robustesse des paramètres de l'espace de tête.....	84
Tableau 21 : Etude de robustesse des autres paramètres .....	84

## Introduction

Les substances actives sont utilisées pour fabriquer des médicaments et sont les substances chimiques qui apportent l'effet thérapeutique au médicament. Ce produit est défini par le code de la santé publique (article L.5111-1) comme « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » (1).

Le contrôle qualité est un domaine important des industries pharmaceutiques, en effet il contribue à démontrer et s'assurer que les différents médicaments mis sur le marché répondent aux spécifications réglementaires requises par le pays de commercialisation.

Les contrôles interviennent tout le long du cycle de vie du médicament ; que ce soit sur la matière première utilisée pour la synthèse des substances actives, les excipients, les produits semi-ouvrés et les produits finis.

De ce fait, le contrôle qualité est un véritable support à la production, il permet à chaque étape de conclure sur la conformité du produit et de l'engager dans l'étape suivante, il contribue également à protéger le patient en participant à démontrer que le médicament répond à ses 3 critères essentiels : qualité, sécurité et efficacité.

De plus, il y a également les conséquences financières : tout écart relevé durant le contrôle pouvant amener à des retraits de lots du marché, ainsi que des poursuites pénales et une perte de confiance du consommateur.

Au niveau du laboratoire, des méthodes analytiques sont utilisées pour permettre les contrôles (contrôles microbiologiques, d'aspect, d'identification, de pureté...). Elles se doivent par conséquent de répondre à leur utilisation attendue et de donner les résultats escomptés, d'autant plus que les médicaments ne sont pas des produits comme les autres du fait de leur finalité : l'utilisation par des patients pouvant être atteints de maladies plus ou moins graves qui les affaiblissent.

D'un point de vue réglementaire, scientifique et qualité, ce sont les validations qui permettent de vérifier que les méthodes employées dans les laboratoires donnent les résultats attendus.

Les méthodes, les technologies et les réglementations évoluent au fil des ans, c'est pourquoi la mise en place de systèmes de revues efficaces sur ces validations analytiques est important afin de toujours être en accord avec l'état de l'art actuel. Cependant les revues ne sont à ce jour pas réglementées et il convient donc à l'industriel d'adapter sa stratégie en fonction de la réglementation des validations et de ses objectifs.

Le présent document a pour objectif de présenter dans une première partie les généralités sur les validations et les revues des validations analytiques ainsi que les paramètres importants à prendre en compte et qu'il est possible de revoir périodiquement par les

entreprises. Ainsi, le but de la première partie est de définir les validations et de donner les outils aux industriels pour mettre en place des systèmes de revue efficaces en fonction de leurs besoins et de leurs procédures. En effet, les paramètres importants et réglementaires des méthodes analytiques seront identiques d'une entreprise à une autre ou d'un site à l'autre. Cependant, il sera nécessaire d'appliquer la revue aux procédures et façons de faire intrinsèque à chaque industrie.

La seconde partie présente la mise en place d'un système de revue des validations des méthodes analytiques sur un site catégorisé fabricant de substances actives à usage pharmaceutique. Dans cette partie est également présenté un exemple d'une revue de validation d'une méthode analytique et ses plans d'action associés. La seconde partie a pour objectif de présenter un exemple d'application et de méthodologie en entreprise en accord avec les procédures d'un site industriel.

## Partie I : Validation des méthodes analytiques

### 1. Généralités

#### a) Définition et importance de la validation des méthodes analytiques

La validation des méthodes analytiques est définie dans un certain nombre de textes réglementaires :

- **La norme ISO/IEC 17025 (clause 5.4.5.1)** (2) décrit la validation comme la « confirmation par l'analyse et la disposition de preuves objectives que les requis particuliers pour un usage spécifique doivent être satisfaits ».
- **GMP : Validation – An important tool Towards Safer World** (3) assure la précision, l'exactitude et la cohérence des tests analytiques qui sont indispensables. La méthode doit être validée pour son utilisation voulue avant de l'appliquer aux échantillons à analyser. Elle doit également délivrer de façon sûre les résultats préétablis sous les définitions données.
- **ICH Q2(R1) : Validation of analytical procedures: text and methodology** (4). L'objectif de la validation d'une procédure analytique est de démontrer qu'elle est adaptée pour son usage.
- **ANVISA : Resolution of collegiate board – RDC # 166, of July 24<sup>th</sup>, 2017: Chapter 2** (5). La validation doit démontrer que la méthode analytique produit des résultats fiables et est appropriée pour son utilisation, de manière documentée et avec des critères objectifs.

Ainsi selon les différentes définitions données par les textes de référence, l'objectif est de démontrer que la méthode est suffisamment fiable et donne les résultats attendus pour son utilisation en routine. De plus, il est également question dans ces textes de preuves documentées qui est un élément important et qui sera détaillé dans ce document.

Les méthodes analytiques sont essentielles dans le cadre du contrôle de la qualité en industrie pharmaceutique. En effet, ces méthodes vont permettre de libérer les lots de produits finis sur le marché et comme dans le cas de cette étude, les substances actives pharmaceutiques.

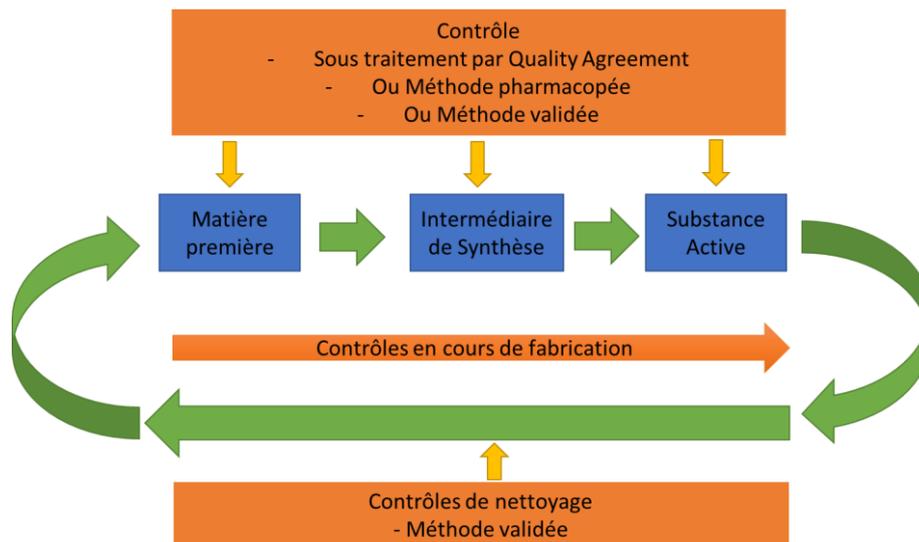
Elles permettent de ce fait de contribuer à ce que les médicaments assurent leurs différentes fonctions en démontrant par exemple que la substance active est à la bonne concentration, qu'elle ne présente pas d'impuretés ou de solvants résiduels.

La fiabilité et l'exactitude de la méthode analytique seront par conséquent essentielles pour garantir l'efficacité, la sécurité et la qualité des médicaments dans leurs différents emplois et présentent un aspect important du système d'assurance qualité d'une entreprise. En effet,

ces méthodes analytiques sont support de la production sur tout le cycle de fabrication du produit et permettent à chaque étape de contrôler la qualité du produit pour l'engager dans la suivante.

### *b) Place dans le processus de fabrication des substances actives*

La fabrication des substances actives (SA) passe par plusieurs étapes successives schématisées dans la figure 1.



*Figure 1 : Points de contrôle lors de la fabrication d'une substance active*

Le point de départ est la matière première (MP). Les MP sont pour la plupart du temps achetées par l'industriel à des fournisseurs accrédités.

La deuxième étape correspond à la transformation des matières premières par toute sorte de procédés (extraction, synthèse chimique, culture cellulaire, fermentation), en produits semi-ouvrés (PSO) qui sont dans le cas des industries chimiques des intermédiaires de synthèse ou des produits bruts. Enfin, la dernière étape concerne le produit fini, dans le cas de cette étude, les produits finis sont des substances actives. Le cycle reprend alors à la MP après nettoyage de la ligne de production.

Afin de s'assurer à chaque étape de la fabrication que le produit est conforme et qu'elle peut continuer, les points de contrôle vont être présents à chacune des étapes de la fabrication : au niveau de la MP, des PSO et de la SA. Ainsi à chaque étape, un écart peut entraîner : pour les MP une réclamation au fournisseur et pour les PSO et les SA le retrait de la chaîne du produit et sa destruction en cas de non-conformité produit avérée ainsi qu'un arrêt de la chaîne.

Il n'existe pas toujours de textes officiels explicitant dans le détail les contrôles à effectuer par l'industriel. Les méthodes de contrôle analytique (identification, pureté) relatives à ces produits devront être dans ce cas développées et validées.

À chaque étape de fabrication, trois situations de contrôle sont par conséquent possibles (Figure 1) :

- Les contrôles peuvent être sous-traités à des fournisseurs pour les MP ou des sous-traitant pour les PSO et SA. Dans ce cas-là, c'est le sous-traitant qui a la responsabilité de s'assurer que les validations analytiques correspondent aux prérequis réglementaires ainsi qu'aux prérequis de l'entreprise. Tout ceci s'effectue par la mise en place de *Quality Agreements* (agrément qualité).
- S'il existe une pharmacopée, il est possible pour l'industriel de suivre les monographies en fonction du pays de distribution sans avoir à revalider la méthode. Dans ce cas, la méthode pharmacopée doit être transférée et son applicabilité au laboratoire doit être démontrée. L'autre possibilité est d'utiliser des méthodes internes : une validation sera nécessaire et l'équivalence à la pharmacopée du pays de libération sera vérifiée.
- S'il n'existe pas de pharmacopée, il est possible de développer et de valider une méthode interne.

Des contrôles en cours de fabrication existent tout au long de la fabrication afin de surveiller et d'orienter la production. Ces contrôles peuvent être des suivis de séchage ou des suivis de développement d'impuretés. Ces méthodes sont automatiquement validées.

Enfin entre chaque production, les lignes sont nettoyées. Les méthodes analytiques sont également support à ce niveau afin de vérifier que le produit nettoyé est en dessous de la limite autorisée en fonction du produit suivant. Ces méthodes de contrôle de nettoyage sont également validées.

Les validations des méthodes analytiques sont importantes et présentes tout au long du cycle du produit, cependant, elles représentent également une exigence réglementaire. Plusieurs textes encadrent ces validations.

## *c) Contexte réglementaire*

### *i. Les textes de référence concernant les validations analytiques*

Le texte réglementaire officiel pour les validations analytiques est l'ICH Q2(R1). Le texte ANVISA est également employé dans le cadre de cette étude puisque c'est le référentiel pour le Brésil et qu'il présente des compléments d'information par rapport au texte ICH Q2(R1) (notamment sur la robustesse) nécessitant son utilisation pour les médicaments destinés à ce pays.

#### **ICH Q2(R1)**

La conférence d'harmonisation des requis techniques pour l'enregistrement des produits pharmaceutiques à usage humain a eu lieu en 1990 sous la forme d'un forum entre les autorités réglementaires et les industriels. Le but était d'harmoniser les requis pour la soumission des nouveaux produits pharmaceutiques entre l'Europe, les Etats-Unis et le Japon. Un des premiers sujets qualité portait sur la validation des méthodes analytiques et cette conférence a permis d'harmoniser les termes ainsi que les définitions et les paramètres de validation.

L'ICH Q2 (R1) est un texte de référence tripartite (Europe, États-Unis et Japon) harmonisé concernant les prérequis réglementaires des méthodes analytiques. Il est constitué de deux parties. La première a été finalisée en octobre 1994 et identifie les paramètres requis ainsi que les caractéristiques à prendre en considération pour les validations de méthodes analytiques. Il était anciennement appelé Q2A.

La seconde partie concerne la ligne directrice sur la méthodologie de validation des paramètres analytiques. Elle a été finalisée en novembre 1996 et complète le texte Q2A en y ajoutant les données expérimentales et statistiques requises pour la validation des méthodes analytiques. Cette partie a été incorporée en 2005, et Q2A et Q2B forment aujourd'hui l'ICH Q2 (R1) (4).

En fonction de l'objectif de la méthode analytique, l'ICH Q2 (R1) présente les paramètres à valider ainsi que le nombre minimal de détermination à effectuer (Tableau 1).

Tableau 1 : Paramètres à valider en fonction du type de méthode analytique (4)

Paramètre de validation	Nombre minimum de déterminations	Procédure analytique			
		Identification	Impuretés		Dosage
			Test Quantitatif	Test limite	
Spécificité	NA	OUI	OUI	OUI	OUI
Linéarité	5	NON	OUI	NON	OUI
Gamme	NA	NON	OUI	NON	OUI
Exactitude	9 (3x3)	NON	OUI	NON	OUI
Fidélité : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Répétabilité</li> <li>• Précision intermédiaire</li> <li>• Reproductibilité</li> </ul>	6 ou 9 (3x3) 2 séries	NON NON NA	OUI OUI NA	NON NON NA	OUI OUI NA
Seuil de détection	En fonction de l'approche	NON	NON	OUI	NON
Seuil de quantification		NON	OUI	NON	NON

Ce texte est en cours de révision car il n'est pas adapté aux méthodes analytiques non conventionnelles comme les analyses statistiques à plusieurs variables qui peuvent être utilisées pour les contrôles en cours de production. De plus, cela donne de la souplesse pour les validations de l'industriel sans qu'elles soient forcément adaptées à la méthode comme par exemple dans le cas de la spectrométrie proche infrarouge. En effet, afin de valider ces méthodes analytiques, une étude en composantes principales est nécessaire afin de réduire le nombre de variable. Des modèles de calibration entre les variables y (variables de référence) et les spectres sont alors développés et doivent être validés. Les méthodes traditionnelles utilisent des standards qui permettent de démontrer en routine la performance des méthodes. Cependant, les méthodes moins traditionnelles, comme les approches multivariées, n'en utilisent pas et demandent par conséquent une étude de robustesse approfondie durant le développement qui n'est pas demandé par la réglementation. Ainsi, le but de la mise à jour du texte sera d'intégrer les méthodes analytiques proche infrarouge, la spectroscopie Raman, la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et la spectrométrie de masse (6).

Ces travaux d'harmonisation ont commencé en juin 2018 et devraient être finalisés en 2021.

### **ANVISA (Agência nacional de vigilância sanitaria ou Agence nationale de vigilance sanitaire brésilienne)**

Les produits pharmaceutiques exportés au Brésil sont sous le contrôle de l'ANVISA. En effet, cette agence est responsable de l'approbation et de la supervision des produits issus des industries agroalimentaire, cosmétique, du tabac, pharmaceutique, des services de santé et dispositifs médicaux. L'agence est dépendante du ministère de la santé (7).

Le Brésil possède sa propre ligne directrice ANVISA concernant les validations des méthodes analytiques qui ajoute des précisions par rapport à l'ICH Q2(R1), notamment au sujet de la robustesse : la première résolution date de 2003 et la dernière mise à jour du 24 juillet 2017.

Le texte est constitué de différentes parties dont l'objectif est d'établir, tout comme l'ICH Q2(R1), les critères de validation des méthodes analytiques mais pour le Brésil.

Le texte est constitué des 5 chapitres suivants (5) :

- Dispositions initiales avec l'objectif du texte, le champ d'application et les définitions
- Dispositions générales
- Substances chimiques de référence
- Paramètres de validation analytique
- Dispositions finales

Pour les validations des dossiers déjà déposés, aucune revalidation n'est exigée selon la résolution de 2017. Elles seront acceptées avec la RE No.899/2003(8). Cependant pour les validations à venir il sera nécessaire de suivre la RDC (*Resolution of the Collegiate Board of Directors* ou Comité Collégial de Direction) résolution N°166 de juillet 2017(5).

Ces textes présentent les critères de validation à remplir mais pas la méthodologie pour le faire. Des guides ont été créés à cet effet afin de répondre à cette problématique.

Les commissions de la SFSTP ont rédigé deux guides de validations :

- Le premier date de 1992 pour les spécialités pharmaceutiques et 1997 pour les spécialités biopharmaceutiques. Il pose les bases sur la manière de valider. Cependant, il présente des faiblesses sur les conclusions des tests et sur les limites d'acceptations. En effet, l'analyste peut être pénalisé s'il est trop fidèle et que la dispersion des résultats est trop faible. De plus, il est confronté à un grand nombre de tests statistiques qui peuvent compliquer ses décisions (9).
- Le nouveau texte de 2003 revoit les bases de la validation et repose sur l'utilisation d'un profil d'exactitude prenant en compte le biais et l'écart type (notion d'erreur totale). Le but est de proposer une démarche harmonisée avec une stratégie de planification des expériences permettant de tirer le maximum d'informations en minimisant le risque de réanalyse (10).

Ces guides ont pour objectif de faciliter le travail des industriels en intégrant les recommandations réglementaires.

Deux guides ont également été rédigés par la FDA (*Food and Drug Administration*) :

- **Le premier concerne l'industriel** sous le nom de « procédures analytiques et validation des méthodes » (11) en date de juillet 2015 et l'objectif est d'assurer que la procédure analytique peut être appliquée dans un laboratoire aux normes FDA. Ce texte a été publié le 19 février 2014 et remplace le document de 2000 « procédures analytiques et validation des méthodes » et de 1987 « Guide pour soumettre des échantillons et données analytiques pour la validation des méthodes ». Il explicite également le contenu et le format des procédures analytiques ainsi que les exigences pour les standards de référence ainsi que différents types de validation analytiques. Cependant les critères d'acceptation de ce texte sont parfois trop stricts.
- **Le second concerne les inspecteurs** et est accès sur les chromatographies en phase inverse et donne des détails critiques sur les méthodologies et des indications sur l'acceptabilité des résultats (12).

Ainsi les lignes directrices ICH et ANVISA sont considérées comme la base de la validation mais ne doivent pas être considérées comme des listes à suivre. En effet, l'ICH Q2(R1) précise qu'« il est de la responsabilité de l'applicant de choisir la procédure de validation et le protocole le plus adapté pour leur produit ».

En complément des textes de référence sur les méthodes analytiques, des textes plus généraux sont à prendre en compte pour les validations des méthodes analytiques comme les pharmacopées.

## *ii. Les pharmacopées*

### **Définition**

Les pharmacopées sont des textes réglementaires à l'intention des professionnels de santé qui définissent les critères de qualité des matières premières et des préparations entrant dans la fabrication des médicaments (à usage humain et vétérinaire). Elles définissent également des méthodes d'analyse pouvant être utilisées pour contrôler la qualité. Une pharmacopée s'applique tout au long de la vie du médicament (13).

### **Les pharmacopées européenne, américaine et japonaise**

La pharmacopée européenne (Ph. Eur.) comprend les textes réglementaires de l'ensemble des 38 états membres européens signataires de la convention relative à l'élaboration de la Ph. Eur.. La direction qui est responsable de la publier et de la réviser est la DEQM (Direction Européenne de la Qualité du Médicament et soins de santé). Elle est la référence juridique en Europe. En cas de non-respect, des sanctions peuvent être prises envers l'industriel par les autorités.

La Ph. Eur. est composée de 3 tomes. Le premier est composé des chapitres généraux, monographies générales, des formes pharmaceutiques, des drogues végétales et des préparations homéopathiques. Les 2 autres tomes concernent les monographies individuelles des différents produits (substances actives et excipients à usage pharmaceutique). Elles sont constituées d'une partie avec des tests d'identification et une partie avec des tests de pureté. Les substances faisant l'objet d'une monographie spécifique doivent également être conformes aux monographies générales. Ainsi, les monographies spécifiques et générales sont complémentaires et ne doivent pas être traitées individuellement. Chaque édition dure 3 ans et est mise à jour par des suppléments 3 fois par an (14). Actuellement, la version en vigueur est la version 9 qui se compose de 8 suppléments non cumulatifs (9.1 à 9.8).

Elle fait partie, avec la pharmacopée japonaise (JP) (15) et la pharmacopée américaine ou *U.S. Pharmacopeia* (USP), des trois référentiels qui sont intégrés dans l'harmonisation internationale des normes gérée par le Groupe de Discussion des Pharmacopées (GDP).

Il existe également d'autres pharmacopées émergentes qui ne font pas parties de ce système d'harmonisation comme la pharmacopée brésilienne, indienne ou chinoise. Elles n'ont pas le

même statut juridique. En effet, les différents pays relatifs à ces pharmacopées ne reconnaissent pas les pharmacopées harmonisées et il est par conséquent nécessaire de suivre les pharmacopées de ces pays pour y commercialiser des produits (13).

Du fait d'un environnement réglementaire très strict en constante évolution, la validation de méthodes analytiques représente un réel enjeu pour les industriels d'autant plus qu'elle est essentielle tout au long du cycle de vie du médicament (de la SA à la commercialisation). Enjeu d'autant plus important qu'une méthode analytique n'est pas quelque chose de figé mais en perpétuelle mutation.

#### d) Cycle de vie des méthodes analytiques

La vie d'une méthode analytique se présente par l'enchaînement de plusieurs étapes pour aller de son élaboration à son utilisation en routine, ces étapes suivent un processus évolutif et peuvent être présentées sous la forme d'un cycle tel que présenté dans la figure 2 (16–18).

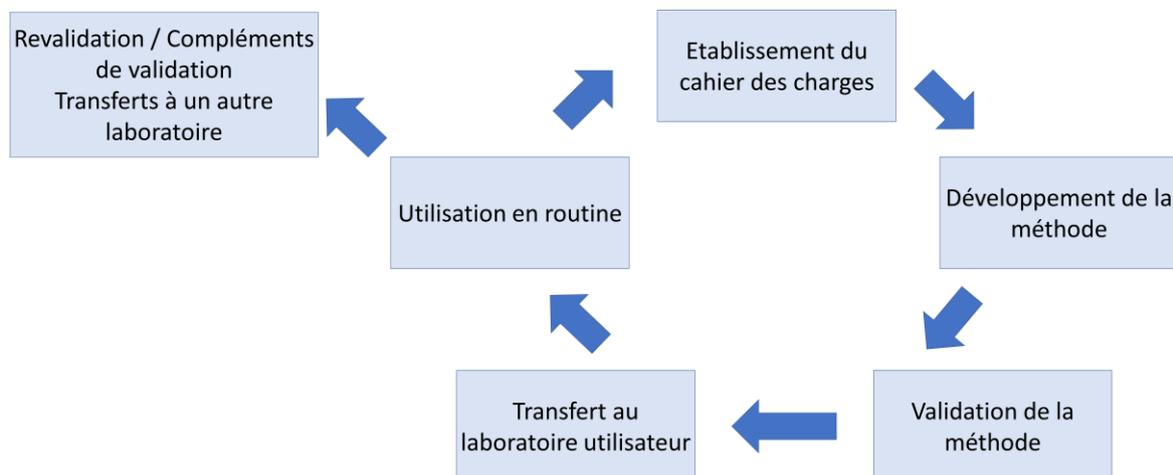


Figure 2 : Cycle de vie des méthodes analytiques

- La première étape est **l'établissement d'un cahier des charges** : le but de cette étape est de définir quel est le besoin de l'entreprise pour l'utilisation de la méthode de routine et il s'agit de la sélection de la méthode. Le type de méthode utilisée doit être déterminé : méthode qualitative / quantitative, l'appareil utilisé, les analytes, ... Cette étape est très importante car si l'estimation des besoins de l'entreprise est mal effectuée, il s'ensuivra des pertes de temps et d'argent.  
Le mieux est à cette étape de définir le rapport bénéfice / coût de la méthode, notamment si plusieurs méthodes sont évaluées, et prendre la plus adaptée. Dans le cas de l'existence d'une pharmacopée, en fonction du lieu d'exportation de la substance active, la facilité et la rentabilité de l'utilisation de la méthode pharmacopée versus la méthode interne avec une validation complète doivent être prises en compte. Tout ceci en respectant les exigences réglementaires du pays et l'équivalence des méthodes.
- La deuxième étape est le **développement de la méthode** : il s'agit de déterminer les paramètres instrumentaux et les conditions opératoires optimales pour la méthode. Lors

de cette étape, un certain nombre d'expériences sont à réaliser. Dans l'approche traditionnelle dite OVAT (*one variable at a time* ou une variable à la fois) les paramètres sont fixés et chaque paramètre à tester est varié indépendamment des autres. Ceci amène à des expériences isolées, déconnectées entre elles, avec de nombreux essais. De plus, avec ce procédé les interactions et la variabilité des réponses ne sont pas observables. C'est pourquoi l'approche par plan d'expérience est recommandée lors de cette étape. Cela permet d'organiser les expériences afin d'obtenir le maximum d'information avec le minimum d'expérience. Grâce à ces plans d'expérience, une variation simultanée de différents facteurs est envisageable.

Lors de cette étape, certains critères de validation tel que la spécificité ou la robustesse sont validés.

- Vient ensuite l'étape de la **validation, à proprement parlé**, qui comme décrit précédemment, a pour objectif d'apporter des preuves qu'une procédure est suffisamment fiable pour apporter des résultats de confiance. Différents paramètres sont à vérifier comme explicité dans le chapitre I.1.b. Cette étape est indispensable avant de passer à une utilisation en routine.
- **L'utilisation en routine** est l'objectif final de la méthode analytique dans le cadre du contrôle qualité afin de pouvoir libérer les produits du laboratoire.
- **Les transferts** : Si le laboratoire de validation est différent du laboratoire d'application en routine, un transfert de la méthode devra avoir lieu. Avant cette étape, la méthode doit obligatoirement avoir fait l'objet d'une validation. L'objectif est de démontrer que le laboratoire receveur maîtrise la mise en œuvre de la méthode dans son environnement de travail (laboratoire, équipement et personnel) et que les résultats obtenus dans les 2 laboratoires sont équivalents. Les critères d'acceptation sont établis dans le protocole de transfert, ces critères tiennent compte de la validation et de l'utilisation en routine de la méthode. La plupart du temps, le transfert s'effectue en démontrant l'exactitude des résultats par la comparaison des moyennes obtenues dans chaque laboratoire ainsi que par la répétabilité.

À l'heure actuelle, aucune procédure réglementaire n'est en vigueur sur la façon d'établir un transfert mais des guides ont été rédigés par la SFSTP et l'ISPE (*International Society of Pharmaceutical Engineering* ou société internationale d'ingénierie pharmaceutique) sur le cheminement à suivre.

Les transferts sont très communs de nos jours, notamment avec la sous-traitance du développement des méthodes. Cependant, ils peuvent s'avérer très difficiles si la robustesse n'a pas été correctement effectuée lors de l'étape de validation.

- **Revalidation / complément de validation** : les méthodes analytiques sont des méthodes vivantes qui peuvent être amenées à évoluer. L'impact de ces évolutions sur la validation de la méthode sera évalué : cela peut aller d'un complément de validation à une revalidation complète.

Il est par exemple nécessaire de revalider ou d'apporter des compléments de validation à une méthode en cas de modification (optimisation) des conditions d'analyse en dehors de l'intervalle autorisé par la pharmacopée ou en dehors des paramètres validés dans la

validation initiale, par exemple en cas de changement des caractéristiques d'appareil, changement de la matrice...

Ces modifications peuvent provenir :

- D'une anomalie détectée lors de l'utilisation : cela peut se concrétiser par des récurrences d'OOS (résultats hors spécification) provenant de la méthode ou des problèmes de robustesse.
- D'une demande d'évolution : cela peut être dû à des évolutions réglementaires

Toute demande de correction d'anomalie ou d'évolution doit être formulée par écrit et être acceptée par un responsable du laboratoire. Elle est ensuite approuvée par le responsable « Assurance Qualité ».

Les modifications doivent être spécifiées, en accord avec les procédures et être tracées par le biais des demandes de modification des monographies.

Si un changement demande un complément de validation ou une revalidation, celui-ci doit être suivi dans un système de contrôle du changement (*Change Control*).

La validation ne doit pas être interprétée comme une activité individuelle mais toujours en adéquation avec le cycle de vie de la méthode. Il est important de garder à l'esprit que la méthode doit rester constamment dans un statut validé. C'est pourquoi, la mise en place d'un système de revue des validations analytiques revêt toute son importance.

## 2. Revue des validations de méthodes analytiques

Les réglementations et les technologies évoluent entraînant une nécessité d'avoir une visibilité sur l'état des méthodes analytiques afin de pouvoir mettre des plans d'action en place et d'être en permanence en accord avec l'état de l'art actuel.

L'objectif de la revue des méthodes est par conséquent d'effectuer un état des lieux périodique des méthodes analytiques en vérifiant leur adéquation par rapport aux technologies et à la réglementation.

Les écarts constatés pourront ainsi être rectifiés par des compléments ou des revalidations complètes des méthodes. Ils pourront être intégrés dans le plan directeur de validation du site afin d'être planifiés et priorisés.

Un certain nombre de paramètres sont à prendre en compte afin d'estimer l'état des validations des méthodes analytiques.

### a) Accord entre la validation et la méthode de routine

Un des paramètres les plus importants à prendre en compte lors de la validation des méthodes est l'accord entre la validation et la méthode de routine. Une validation s'applique à une méthode bien définie et les méthodes étant évolutives, cet accord doit perdurer au cours du temps. C'est pourquoi afin de créer un système de revue efficace, ce paramètre doit être pris en compte. Les écarts peuvent se justifier sur des méthodes validées anciennement et ayant

subi des modifications. Par exemple, un changement de solvant de dissolution peut rendre la validation initiale caduque. Cet accord peut être étudié par le biais des rapports de validation pour l'accord initial puis *via* les demandes de modification des pharmacopées pour les évolutions.

Enfin, toutes les méthodes internes doivent être validées conformément à la réglementation.

### *b) Les paramètres de validation selon l'ICH Q2(R1) et ANVISA*

Les paramètres de validations tels que définis par l'ICH Q2(R1)(4) et l'ANVISA (5) sont les suivants :

#### *i. Spécificité*

**La spécificité** est la capacité de la méthode à démontrer que la réponse ne provient que du composé à analyser, même en présence d'autres composés tels que des impuretés, des impuretés de dégradation, la matrice...

Ce paramètre doit être déterminé dans les premières étapes du développement afin de vérifier que les autres analytes n'interfèrent pas.

Un autre terme scientifique existe pour qualifier ce paramètre : la sélectivité. Elle est définie comme : la réponse pouvant provenir de plusieurs composés qui peuvent ou ne peuvent pas être séparés entre eux. Etant donné que peu de méthodes donnent une réponse uniquement de l'analyte, ce terme est plus approprié.(19)

Les interférences aléatoires doivent être démontrées par l'utilisation de blancs (solutions de contrôle exemptes d'analyte et d'impuretés se limitant souvent au solvant de dissolution).

#### **Prérequis réglementaires**

Les textes sont relativement imprécis sur le sujet : la spécificité doit être démontrée selon l'objectif de la méthode analytique utilisée.

En chromatographie, la spécificité peut être évaluée par le calcul des facteurs de résolution dont la formule de la Ph. Eur. est :

$$R = \frac{1,18 * (t_2 - t_1)}{w_{1/2h_2} + w_{1/2h_1}} \quad (\text{Eq. 1})$$

Avec

- $t_1$  et  $t_2$  : Temps de rétention des deux pics
- $w_{1/2h_1}$  et  $w_{1/2h_2}$  : Largeurs à mi-hauteur des deux pics

Contrairement à cette dernière qui prend en compte les largeurs à mi-hauteur, la formule de l'USP s'appuie sur les largeurs à la base des pics et est de ce fait moins précise que celle de la Ph. Eur. :

$$R = \frac{2 * (t_2 - t_1)}{w_{h1} + w_{h2}} \quad (\text{Eq. 2})$$

Avec

$w_{h1}$  et  $w_{h2}$  : Largeurs à la base des deux pics

En cas de pics non séparés, le ratio pic-vallée peut être utilisé :

$$\frac{p}{v} = \frac{H_p}{H_v} \quad (\text{Eq. 3})$$

Avec

- p : Pic
- v : Vallée
- $H_p$  : Hauteur mesurée entre la ligne de base et le sommet du pic de l'impureté
- $H_v$  : Hauteur mesurée entre la ligne de base et la vallée entre le pic principal et le pic de l'impureté

La spécificité peut également être démontrée par l'exactitude ou en comparant les résultats à une autre procédure analytique dont la spécificité est démontrée.

Enfin lors de cette étape, la pureté des pics peut être évaluée en vérifiant l'absence de co-élution de pics par exemple par inspection visuelle ou en utilisant une méthode chromatographique complémentaire voire de la LC-MS (Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse).

## *ii. Seuil de détection (SD) et seuil de quantification (SQ)*

**Le seuil de détection (SD)** est la quantité minimale d'analyte que la méthode va pouvoir détecter mais ne pas forcément quantifier.

**Le seuil de quantification (SQ)** est la plus petite quantité d'analyte qui peut être déterminée par la méthode avec une précision et une exactitude acceptable. C'est un paramètre utilisé pour les dosages de composés à faible concentration. Il est particulièrement utilisé pour la détermination des impuretés ou des produits de dégradation.

### Prérequis réglementaires :

Selon l'ICH Q2 (R1) et l'ANVISA, 3 manières de calculer la SD sont disponibles :

- Méthode 1 : L'inspection visuelle

Elle est déterminée par l'analyse d'échantillons de concentration connue et est établie en déterminant le niveau minimum à partir duquel l'analyte peut être correctement détecté.

- Méthode 2 : Basée sur le rapport signal sur bruit

Dans ce cas, la détermination est faite en comparant les signaux mesurés d'échantillons connus à basse concentration avec ceux d'un blanc. Le ratio doit être supérieur à 3.

Le signal sur bruit se calcule de la façon suivante selon la Ph. Eur. :

$$\frac{S}{B} = \frac{2 * H}{h} \quad (\text{Eq. 4})$$

Avec

- h : Plus grande fluctuation du bruit de fond dans le blanc. Elle est déterminée sur une distance égale à 5 fois la largeur à mi-hauteur du pic correspondant au produit concerné et située de part et d'autre de l'endroit où le pic serait observé (en  $\mu\text{V}$  ou  $\mu\text{AU}$ )
- H : Hauteur du pic de produit concerné (en  $\mu\text{V}$  ou  $\mu\text{AU}$ )

Ainsi la formule suivante est obtenue pour le SD et le SQ :

$$SD = \frac{3h * C}{2H} = \frac{3 * C}{S/B} \quad (\text{Eq. 5})$$

$$SQ = \frac{10h * C}{2H} = \frac{10 * C}{S/B} \quad (\text{Eq. 6})$$

- Méthode 3 : Basée sur l'écart type de la réponse et de la pente de l'étude de linéarité

Dans ce cas-là, la formule suivante est utilisée :

$$SD = \frac{3,3 \sigma}{S} \quad (\text{Eq. 7})$$

Avec

- $\sigma$  : Ecart type de la réponse. Il peut être calculé de différentes façons, notamment sur l'écart-type d'un blanc ou sur la droite de calibration
- S : Pente de la droite de calibration

Concernant le SQ : les approches pour le calculer sont exactement les mêmes que pour le SD, la seule différence étant qu'un ratio de 10 est utilisé à la place de 3.

### *iii. Intervalle de mesure*

**L'intervalle de mesure** est l'intervalle d'une procédure sur lequel la procédure a un niveau acceptable de fidélité, d'exactitude et de linéarité.

La gamme de travail correspond à la gamme dans laquelle la méthode peut être appliquée. Le point le plus bas de cette gamme est le seuil de quantification ou de détection. La valeur haute est dépendante du système de détection (20).

Dans cette gamme de travail, il existe une gamme linéaire dans laquelle la réponse est suffisamment proportionnelle à la concentration de l'analyte. Elle est dépendante de l'échantillon et de différents facteurs comme les interactions induites par la matrice. S'il existe une relation linéaire, elle doit être démontrée par l'étude de la régression qui sera présentée dans la partie suivante.

### *iv. Linéarité*

**La linéarité** est la capacité de la méthode à obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration d'analyte dans l'échantillon (sur un certain intervalle).

#### **Prérequis réglementaires :**

Pour ce paramètre, l'ICH et l'ANVISA recommandent au minimum 5 concentrations :

- Si possible de 80 à 120 % pour une substance active
- Du SQ à 120 % de la spécification pour une impureté (gamme)

Depuis la résolution de 2017, l'ANVISA recommande de l'effectuer en trois répétitions.

Les données recommandées à fournir sont : le coefficient de corrélation, l'ordonnée à l'origine, la pente, la somme résiduelle des carrés ainsi que les graphiques correspondants.

#### **Outils statistiques :**

La régression permet d'évaluer la relation linéaire entre les résultats d'une méthode sur la gamme de validation. La droite de régression prend une équation de la forme  $Y = bx + a$  avec  $b$  la pente et  $a$  l'ordonnée à l'origine (20).

Afin de vérifier que la linéarité est avérée, **le diagramme des résidus** est un outil important. En représentant les résidus sur l'axe  $y$  et les variables en  $x$ , des relations non linéaires entre les variables peuvent être détectées et d'éventuelles valeurs aberrantes peuvent être appréciées. Ces résidus représentent la différence entre les points expérimentaux et la droite de régression. Étant donné que des écarts positifs et négatifs pourraient annuler les résidus, ceux-ci sont mis au carré et additionnés afin de minimiser ce point. Cette méthode est également appelée la méthode des moindres carrés. Il est supposé que les variables  $x$  sont

sans erreur et que seules les variables y se distribuent aléatoirement. En effet, les variables x sont souvent le fruit de préparation bien caractérisées et l'erreur de préparation est négligeable par rapport à la variabilité des y.

Les formules suivantes peuvent être utilisées :

$$RSS = Q_{yy} - \frac{Q_{xy}^2}{Q_{xx}} = \sum (y_i - (a + bx_i))^2 \quad (\text{Eq. 8})$$

$$S_r = s_y \sqrt{\frac{RSS}{n-2}} \quad (\text{Eq. 9})$$

C'est une des approches les plus simple pour démontrer la linéarité. Si le modèle est correct, les résidus sont répartis aléatoirement.

Un autre paramètre important est le calcul du **coefficient de corrélation** (r) qui donne la corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs observées. Plus ce paramètre est proche de -1 ou de +1, plus la corrélation est bonne. D'autres tests statistiques sont nécessaires afin d'apprécier les erreurs systématiques.

Le coefficient de corrélation est calculé selon l'équation suivante :

$$r = \frac{Cov(x,y)}{\sigma_x \sigma_y} \quad (\text{Eq. 10})$$

Avec

- $Cov(x,y)$  : Covariance des variables x et y
- $\sigma_x \sigma_y$  : Ecart type de x et y

r est compris entre -1 et +1. Plus r est proche de 1 et plus la corrélation linéaire entre les variables sera forte.

**L'intervalle de confiance** peut être utilisé pour la linéarité : les valeurs des résultats analytiques se distribuent autour d'une valeur vraie qui est la moyenne dans une distribution normale. Cette valeur se trouve dans un intervalle appelé l'intervalle de confiance. Plus le nombre d'échantillon est grand et plus cet intervalle est resserré et proche de 0. L'intervalle est volontairement restreint à une partie de la courbe gaussienne. En effet même si la probabilité est faible, une mesure analytique peut prendre n'importe quelle valeur de la courbe. La probabilité d'erreur est représentée par  $\alpha$  et la partie sous la courbe qui est ignorée est le niveau P qui minore la probabilité de contenir la valeur à estimer (100-  $\alpha$ ).

Intervalle de confiance :

$$IC = \bar{X} \pm s \frac{t(P, df)}{\sqrt{n}} \quad (\text{Eq. 11})$$

Avec

- $t$  : Coefficient lu dans la table de student en fonction de la probabilité (P) et du degré de liberté (df)
- $\bar{X}$  : Moyenne
- $s$  : Ecart-type
- $n$  : Nombre d'échantillon de la série

L'intervalle de confiance peut être utilisé lors du test de linéarité pour démontrer que l'ordonnée à l'origine est égale à 0. En effet, l'hypothèse nulle suivante (H0) peut être utilisée : « l'ordonnée à l'origine n'est pas statistiquement différente de 0 ». Si la valeur de  $a$  est comprise dans l'intervalle de confiance, l'hypothèse (H0) est vérifiée. L'intervalle de confiance peut également être utilisé pour démontrer que la pente est significativement différente de 0.

Les formules suivantes sont alors utilisées :

Intervalle de confiance de la pente

$$IC_b = \frac{100 t(P, n - 2) \sqrt{s^2 b}}{b} \quad (\text{Eq. 12})$$

Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine

$$IC_a = t(P, n - 2) s_a \quad (\text{Eq. 13})$$

Calcul de la pente

$$b = \frac{Q_{xy}}{Q_{xx}} \quad (\text{Eq. 14})$$

Ecart-type de la pente :

$$s_b = \sqrt{\frac{s_y^2}{Q_{xx}}} \quad (\text{Eq. 15})$$

Calcul de l'ordonnée à l'origine :

$$a = y - bx \quad (\text{Eq. 16})$$

Ecart-type de l'ordonnée à l'origine :

$$s_a = s_y \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{x^2}{Q_{xx}}} \quad (\text{Eq. 17})$$

Avec

Somme des carrés

$$Q_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 \quad (\text{Eq. 18})$$

$$Q_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 \quad (\text{Eq. 19})$$

$$Q_{xy} = \sum ((x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})) \quad (\text{Eq. 20})$$

$t(P, n-2)$  lu dans la table de student avec un degré de liberté de  $n-2$

Un autre outil statistique pouvant être utilisé pour vérifier l'ordonnée à l'origine et la significativité de la pente est **le test de student**, les hypothèses nulles sont alors les mêmes que pour l'intervalle de confiance (9):

Les formules suivantes sont alors utilisées :

Pour la pente

$$t_b = \frac{|b|}{s_b} \quad (\text{Eq. 21})$$

Pour l'ordonnée à l'origine

$$t_a = \frac{|a|}{s_a} \quad (\text{Eq. 22})$$

$t_a$  et  $t_b$  sont ensuite comparés à  $t(P, n-2)$  lu dans la table de student. Si  $t_b$  est supérieur à  $t(P, n-2)$ , la pente n'est pas significativement différente de 1 et si  $t_a$  est inférieur à  $t(P, n-2)$ , l'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différente de 0.

Enfin, le dernier test pouvant être utilisé pour démontrer la significativité de la pente est le test de Fisher :

La formule suivante est utilisée :

$$F_1 = \frac{S_I^2}{S_R^2} \quad (\text{Eq. 23})$$

Avec

- $S_I^2$  : Variation due à la régression
- $S_R^2$  : Variation résiduelle

Le test permet ainsi de comparer les variations dues à la régression et aux erreurs (variation résiduelle).

Si  $F_1$  est supérieur à la valeur lue dans la table de Fisher,  $F(\alpha ; 1 ; n-2)$ , la pente est significative et il y a dépendance linéaire au seuil de probabilité choisi.

#### v. *Fidélité*

**La fidélité** représente l'étroitesse d'accord sur une série de mesures obtenues sur plusieurs échantillonnages du même échantillon. La fidélité doit être considérée sur trois niveaux qui sont la répétabilité, la précision intermédiaire et la reproductibilité.

- **La répétabilité** exprime la fidélité sous des mêmes conditions opératoires et dans un court intervalle de temps.
- **La précision intermédiaire** représente des variations intra-laboratoire : jours différents, analystes différents, équipements différents.
- **La reproductibilité** démontre la fidélité inter laboratoire, elle représente la variation maximale. La reproductibilité de la méthode n'est pas obligatoire si la précision intermédiaire a été démontrée.

La fidélité de l'appareil existe également mais ce n'est pas un paramètre ICH.

La fidélité représente la reproductibilité d'une mesure dans une série soit la dispersion d'une série autour d'une valeur vraie. La série comprend un nombre (n) de mesures individuelles.

#### **Outils statistiques :**

Les résultats analytiques sont centrés autour d'une valeur vraie suivant une distribution gaussienne ou normale. La probabilité d'obtenir une valeur décroît en s'éloignant de la moyenne. Il existe des tests statistiques pour les distributions normales mais ils ne sont pas très adaptés pour les validations analytiques. En effet, le nombre de résultats est faible et il est plus important de vérifier l'absence d'erreurs systématiques (biais).

Le paramètre le plus utilisé pour mesurer la fidélité est l'écart-type ou le coefficient de variation (21). En effet, il représente la distance entre le point le plus haut et le point d'inflexion de la courbe Gaussienne.

L'écart-type est égal à la racine carrée de la somme des carrés des écarts des mesures individuelles à la moyenne, le tout divisé par le nombre de résultats de la série moins un.

Calcul de l'écart type :

$$S = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (\text{Eq. 24})$$

Le coefficient de variation se calcule comme le ratio de l'écart-type sur la moyenne, multiplié par 100 :

$$\text{CV} = \frac{S}{\bar{x}} * 100 \quad (\text{Eq. 25})$$

Pour une méthode analytique donnée, chacun des étages de la fidélité comprend des éléments de variabilités. Les différents étages sont imbriqués les uns dans les autres comme présenté dans la figure 3.

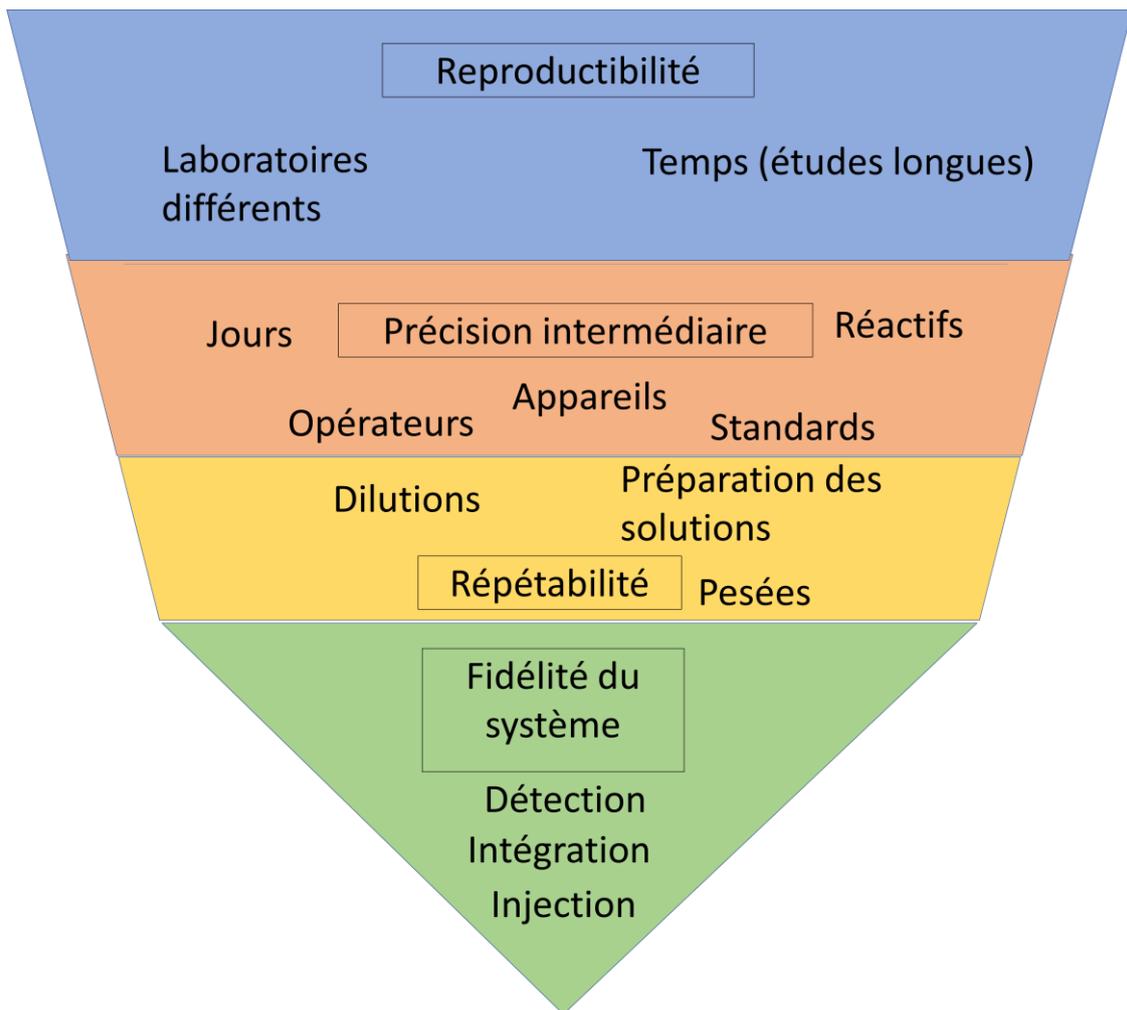


Figure 3 : Représentation des différents niveaux de fidélité

### **Fidélité du système**

Ce paramètre permet d'apprécier la répétabilité du système, par exemple en chromatographie phase gazeuse (CPG) ou chromatographie liquide haute performance (HPLC) par l'injection répétée de la même solution. Cela permet d'apprécier les variations du système comme la pompe, la détection, l'intégration ou des variations de débits sur le court terme.

Ce paramètre n'est pas un paramètre ICH, cependant il permet d'apprécier la variabilité de l'appareil. C'est pourquoi c'est un paramètre important des qualifications et des *system suitability tests*.

### **Répétabilité**

Ce test ajoute, par rapport au paramètre décrit précédemment, la variabilité de la préparation des solutions comme les dilutions ou les pesées. Afin de se rapprocher au mieux des conditions analytiques de routine, des lots de production peuvent être utilisés dans ce test.

### **Prérequis réglementaires :**

Selon l'ICH (4) et l'ANVISA (5), la répétabilité peut être obtenue de deux façons différentes :

- Méthode 1

Par un minimum de 9 déterminations couvrant la gamme (3 concentrations répétées 3 fois).

La répétabilité d'une méthode étant dépendante de la concentration, il est intéressant d'utiliser cette procédure.

- Méthode 2

Par un minimum de 6 déterminations à 100 % de la concentration testée.

### ***Précision intermédiaire***

Avec ce test est ajouté la variabilité intra laboratoire avec la notion de temps, d'appareils et d'opérateurs différents. Lors de ce test, les échantillons doivent être préparés comme en routine avec notamment les mêmes calibrations afin de prendre en considération la variabilité potentielle du standard.

### **Prérequis réglementaires :**

Les référentiels sont assez imprécis sur la façon dont elle doit être démontrée. Il est demandé d'établir les effets d'événements aléatoires sur la fidélité de la procédure analytique. Les paramètres jour, analyste et équipement peuvent varier pas obligatoirement de manière individuelle d'où la recommandation de l'utilisation de plans d'expériences. Ces derniers permettent d'optimiser le nombre d'essais.

### ***Reproductibilité***

La reproductibilité ajoute à la précision intermédiaire les variabilités inter laboratoires, c'est le paramètre correspondant à la variabilité maximale.

### **Prérequis réglementaires :**

Ce paramètre n'est pas considéré comme indispensable selon l'ICH Q2 (R1) et l'ANVISA.

Il est vérifié statistiquement en étudiant l'homogénéité des variances à chaque niveau. Cependant, la question de la significativité des résultats se pose. C'est pourquoi, une approche plus pragmatique consiste à évaluer une limite haute de coefficient de variation sur les différentes valeurs.

Pour les tests de précision intermédiaire et de reproductibilité, des approches multivariées et de plans d'expériences peuvent être utilisées afin d'étudier les effets de tous les facteurs. L'avantage est de pouvoir apprécier les interactions entre les facteurs.

### ***Importance de ces tests pour l'utilisation en routine***

Les variabilités des méthodes analytiques doivent être déterminées lors de l'utilisation en routine. En effet, une bonne connaissance de ces paramètres permet de détecter des résultats atypiques et de mener à bien les enquêtes en cas de résultat hors tendance ou hors spécification.

### ***Vérification de la fidélité en routine***

La fidélité de la méthode analytique peut être vérifiée en routine par le biais de *system suitability tests* (SST) (injection répétée de standards). Ce point sera revu dans la partie dédiée aux SST.

## **vi. Exactitude**

L'**exactitude** exprime l'étroitesse d'accord entre la valeur qui est acceptée comme la valeur vraie (ou une valeur de référence) et la valeur retrouvée par la méthode.

### **Prérequis réglementaires :**

Pour un dosage elle peut être obtenue de différentes façons :

- Méthode 1 : Par l'application de la procédure analytique à un analyte de quantité connue
- Méthode 2 : Par la comparaison de la méthode analytique à une méthode orthogonale
- Méthode 3 : Elle peut être présumée une fois la fidélité, la linéarité et la spécificité établies

Pour les impuretés :

Des échantillons dopés en impuretés doivent être utilisés. Si les impuretés ne sont pas disponibles, l'utilisation de résultats d'une procédure indépendante ou des facteurs de réponse de la substance active est acceptable.

L'ICH (4) et l'ANVISA (5) présentent des prérequis réglementaires sur le nombre de points et de concentrations qui sont présentés ci-dessous :

### Plans d'expériences :

Les données exigées sont un minimum de 9 points sur 3 concentrations couvrant la gamme. Si possible, 3 concentrations répétées 3 fois sont évalués. L'exactitude est ensuite reportée comme le pourcentage de recouvrement avec la quantité connue ajoutée ou la différence entre la moyenne et la valeur acceptée vraie dans l'intervalle de confiance.

### Calculs :

Pour la méthode des dopages en impuretés, la formule utilisée est la suivante :

$$\text{Recouvrement} = \frac{\text{Teneur } i D - \text{Teneur } i}{\text{Teneur } i A} \times 100 \quad (\text{Eq. 26})$$

Avec

- Teneur iD : Teneur obtenue pour le composé i dans la solution dopée
- Teneur i : Teneur obtenue pour le composé i dans la solution à examiner
- Teneur iA : Teneur obtenue pour le composé i dans la solution de dopage ou teneur théorique calculée de dopage

Pour la potentiométrie, la comparaison du titre potentiométrique avec le titre obtenu en utilisant une méthode orthogonale (deuxième méthode utilisant une technique différente) ou la comparaison du titre théorique calculé par rapport au titre expérimental peuvent être utilisées.

### vii. Robustesse

**La robustesse** est la capacité d'une méthode à rester inchangée par de petites variations délibérées dans les paramètres de la méthode. Elle donne des informations sur sa fiabilité en utilisation courante. La robustesse doit être considérée durant le développement de la méthode et selon le type de procédure en cours d'étude.

En effet dans une méthode, certains paramètres peuvent affecter sévèrement la performance de celle-ci s'ils ne sont pas contrôlés. C'est pourquoi, ces paramètres sont à étudier dans les études de robustesse.

Comme vu précédemment, ce paramètre n'est pas un paramètre de validation mais de développement. Il est déterminé pour les produits destinés au marché brésilien car explicitement demandé par ce dernier.

Pour les méthodes chromatographiques, un certain nombre de paramètres peuvent être étudiés et sont présentés dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Paramètres pouvant être étudiés pour démontrer la robustesse d'une méthode

Préparation des solutions	Stabilité des solutions
Chromatographie liquide	<ul style="list-style-type: none"> <li>- pH de la solution</li> <li>- Température</li> <li>- Différents fabricants de solvants</li> </ul>
Chromatographie gazeuse	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Différents lots de colonne ou de fabricants</li> <li>- Température</li> <li>- Débit du gaz vecteur</li> <li>- Temps d'agitation</li> <li>- Espace de tête</li> </ul>

Les textes réglementaires ne donnent pas plus de précision sur le sujet, seulement que l'évaluation doit être effectuée durant le développement et que cette robustesse est obligatoire dans le cas de l'ANVISA.

#### viii. Stabilité des solutions et des échantillons

La stabilité des solutions fait partie de la robustesse, elle consiste à vérifier que les solutions sont stables au minimum sur la période du déroulement de la méthode analytique.

La stabilité des solutions est étudiée à plusieurs échéances, par exemple T0, 24h, 48h, 72h (22).

À chaque échéance, l'échantillon est analysé selon la méthode de la monographie. Le travail s'effectue sur 3 échantillons par échéance afin de donner de la significativité aux résultats.

Le recouvrement à chaque échéance peut être calculé avec la formule suivante :

$$\text{Recouvrement} = \frac{\text{Teneur } T}{\text{Teneur } T_0} \quad (\text{Eq. 27})$$

Avec

- Teneur T : Teneur obtenue à chaque échéance
- Teneur T0 : Teneur obtenue à la première analyse

La stabilité des échantillons n'est pas un prérequis réglementaire et est souvent ignoré durant la validation des méthodes analytiques. Pourtant en fonction des conditions de conservation, des produits de dégradation peuvent se former. Ces impuretés peuvent également interagir avec les impuretés à quantifier ou la substance active et biaiser le résultat (23).

C'est pourquoi, cet élément ne doit pas être sous-estimé et peut être étudié en appliquant des conditions stressantes sur les échantillons.

### ix. Facteur de réponse

Le facteur de réponse correspond au ratio de la réponse de l'impureté et de l'analyte sous des conditions chromatographiques identiques. Il permet de quantifier l'impureté sans utiliser de standard externe spécifique (22).

Même si ce n'est pas un paramètre ICH, il est important à déterminer. En effet, certaines impuretés peuvent avoir une structure comparable à celle de la substance active.

Il existe 2 méthodes de détermination :

- 1) Le facteur de correction de l'impureté considérée est calculé à partir des pentes des droites de régression linéaire de l'impureté et de l'analyte, obtenues dans la même gamme de concentration.

$$\text{Facteur de correction} = a_{\text{Produit}} / a_{\text{Impureté}} \quad (\text{Eq. 28})$$

Avec

- $a_{\text{Impureté}}$  : Pente de la droite de régression de l'impureté
- $a_{\text{Produit}}$  : Pente de la droite de régression du produit

- 2) Il peut être déterminé sur 3 solutions indépendantes diluées (entre le SQ de travail et 120 % de la spécification la plus haute) contenant l'analyte et les impuretés à la même concentration.

La formule suivante est ainsi utilisée :

$$\text{Facteur de correction} = \frac{S_{\text{analyte}} * C_{\text{impureté}} * T_{\text{impureté}}}{S_{\text{impureté}} * C_{\text{analyte}} * T_{\text{analyte}}} \quad (\text{Eq. 29})$$

Avec

- $S_{\text{impureté}}$  : Surface de l'impureté
- $S_{\text{analyte}}$  : Surface de l'analyte
- $C_{\text{analyte}}$  : Concentration (en  $\text{mg.mL}^{-1}$ ) de l'analyte dans la solution
- $C_{\text{impureté}}$  : Concentration de l'impureté (en  $\text{mg.mL}^{-1}$ ) de l'analyte dans la solution
- $T_{\text{analyte}}$  : Titre de l'analyte
- $T_{\text{impureté}}$  : Titre de l'impureté

Le facteur de réponse de l'impureté considérée par rapport à l'analyte est généralement pris en compte s'il est inférieur à 0,8 ou supérieur à 1,2.

#### x. Effet matrice

L'effet matrice permet d'étudier l'interférence potentielle du composé étudié et de la matrice dans lequel il est présent sur le résultat de la méthode analytique. Ce paramètre n'est pas un paramètre ICH.

Cependant ce paramètre est important. En effet, lors des analyses physico-chimiques certains produits sont recherchés à l'état de traces et peuvent être sensibles à leur milieu. De plus, cet effet matrice peut conduire à des erreurs d'interprétation des résultats s'il n'est pas pris en compte (24).

Il consiste à comparer les régressions linéaires du composé étudié obtenu en matrice et hors matrice (22).

La différence relative des pentes pour chaque solvant se calcule selon la formule :

$$\text{Différence relative} = [(\text{Pente solvant en matrice} - \text{Pente solvant sans matrice}) / \text{Pente solvant en matrice}] * 100 \quad (\text{Eq. 30})$$

Cette différence relative doit être le plus proche possible de 0. Usuellement, l'effet matrice est considéré comme acceptable si la différence relative est inférieure à 10%.

Ainsi, les différents paramètres de validation à prendre en considération lors de la revue des validations des méthodes analytiques ont été identifiés et explicités. Les textes étant assez souples, plusieurs façons de faire sont possibles pour leur détermination et leur revue, l'important étant que la validation suive la réglementation ICH et / ou ANVISA. De nombreux outils statistiques et des guides sont également à portée de l'industriel pour démontrer ces différents paramètres.

Lors de la mise en place de la revue, ces outils et la façon de faire sont à adapter aux procédures internes et au fonctionnement intrinsèque de l'entreprise.

En cas d'identification d'un écart au niveau d'un de ces paramètres, des compléments ou des revalidations sont à envisager. Ces validations sont intégrées dans le plan directeur de validation qui sera définis dans la partie I.3.

### *c) Paramètres supplémentaires s'inscrivant dans le système d'assurance qualité*

Les validations analytiques doivent être incluses dans l'ensemble du système de l'assurance qualité. Cela inclut donc des mesures qui assurent la qualité et la fiabilité des données de la méthode analytique comme les qualifications, des *system suitability tests* adaptés et une bonne documentation des validations. Dans le cadre de la mise en place d'une revue des validations analytiques, ces différents éléments sont donc indispensables.

#### *i. La documentation des validations analytiques*

Comme décrit précédemment, un des paramètres important du système d'assurance qualité des validations analytiques est une bonne documentation de ces validations.

Un certain nombre de documents supportent les informations de validation analytique et sont énumérés ci-dessous :

**Le protocole de validation** définit les termes et le processus de la validation. Il doit être rédigé en amont de la validation. En effet, il constitue la base de la validation et décrit en détail le déroulement de la validation et les critères d'acceptation définis (coefficient de variation, coefficient de régression...). Il décrit également la façon dont seront démontrés les différents paramètres de validation selon l'ICH Q2 (R1) ainsi que la description de la méthode de routine (afin de savoir sur quelle méthode porte la validation), les plans d'expérience, les dilutions, les lots de produits utilisés...

Lors de la validation, ce protocole de validation est suivi scrupuleusement.

**Le rapport de validation correspond au** compte rendu des résultats obtenus suite à la réalisation du protocole. Il doit apporter la preuve que chaque élément de validation a bien été démontré. Il décrit également les éventuels écarts par rapport au protocole et les justifications associées.

Ainsi, il reprend les conditions opératoires de la méthode, la préparation des solutions, les échantillons utilisés, les différents paramètres validés accompagnés de la preuve expérimentale (données brutes) et enfin la conclusion sur la validité de la méthode. Il résume les résultats obtenus et apporte les conclusions.

Le rapport et le protocole sont décrits dans l'annexe 15 des BPF comme des documents indispensables à toute validation (25).

**Les données brutes** sont les données non interprétées provenant directement des appareils ou des résultats d'expérimentation (fiche de travail, chromatogrammes...). Elles font gage de preuve quant aux informations apportées dans le rapport de validation et sont essentielles.

Pour considérer une méthode comme validée, ces 3 éléments doivent être disponibles (protocole, rapport et données brutes). Si tel n'est pas le cas, les recommandations préconisent de revalider la méthode.

De plus, ces données doivent être archivées à minima toute la durée de vie de la méthode analytique plus dix ans. En effet, contrairement aux dossiers de lots, les documents de

validations doivent pouvoir être présentés à tout moment tant qu'une autre validation n'a pas été effectuée.

Ainsi un système de gestion de la documentation des documents de validation paraît indispensable afin de garantir la disponibilité de ces documents. Un exemple de système est présenté dans la partie de mise en application d'un système de revue du présent document.

Dans le cadre de la mise en place d'une revue des validations des méthodes analytiques, ce point est à prendre en compte et chaque validation doit comprendre ces 3 documents.

Un autre indicateur faisant partie du système assurance qualité est l'étude des résultats hors spécification et hors tendance :

## *ii. Les résultats hors spécification et hors tendance*

**Les Out Of Spécification (OOS)** sont des résultats qui sont en dehors des critères d'acceptation qui ont été établis par l'entreprise (hors spécification).

**Les Out Of Trend (OOT)** sont des résultats hors tendance. Ce sont des résultats atypiques, aberrants ou des anomalies provenant d'une série de résultats obtenus sur une courte période de temps. Un OOT est un résultat qui rentre dans les spécifications mais qui est en dehors de la variabilité attendue dans la procédure analytique.

Les OOS/OOT doivent faire l'objet d'une investigation documentée afin de déterminer leur cause première. En effet, les OOS peuvent être liés à une anomalie analytique ou du produit.

Pour les produits en sous-traitance, les fournisseurs sont prévenus pour tout OOS/OOT confirmé.

Les OOS/OOT étant un aspect critique de l'activité des laboratoires de contrôle qualité dans l'industrie pharmaceutique, la FDA a édité un guide sur la façon de les gérer qui peut être décliné en procédures internes dans les entreprises (26) ; celle mise en place sur le site de cette étude est présentée en Figure 4.

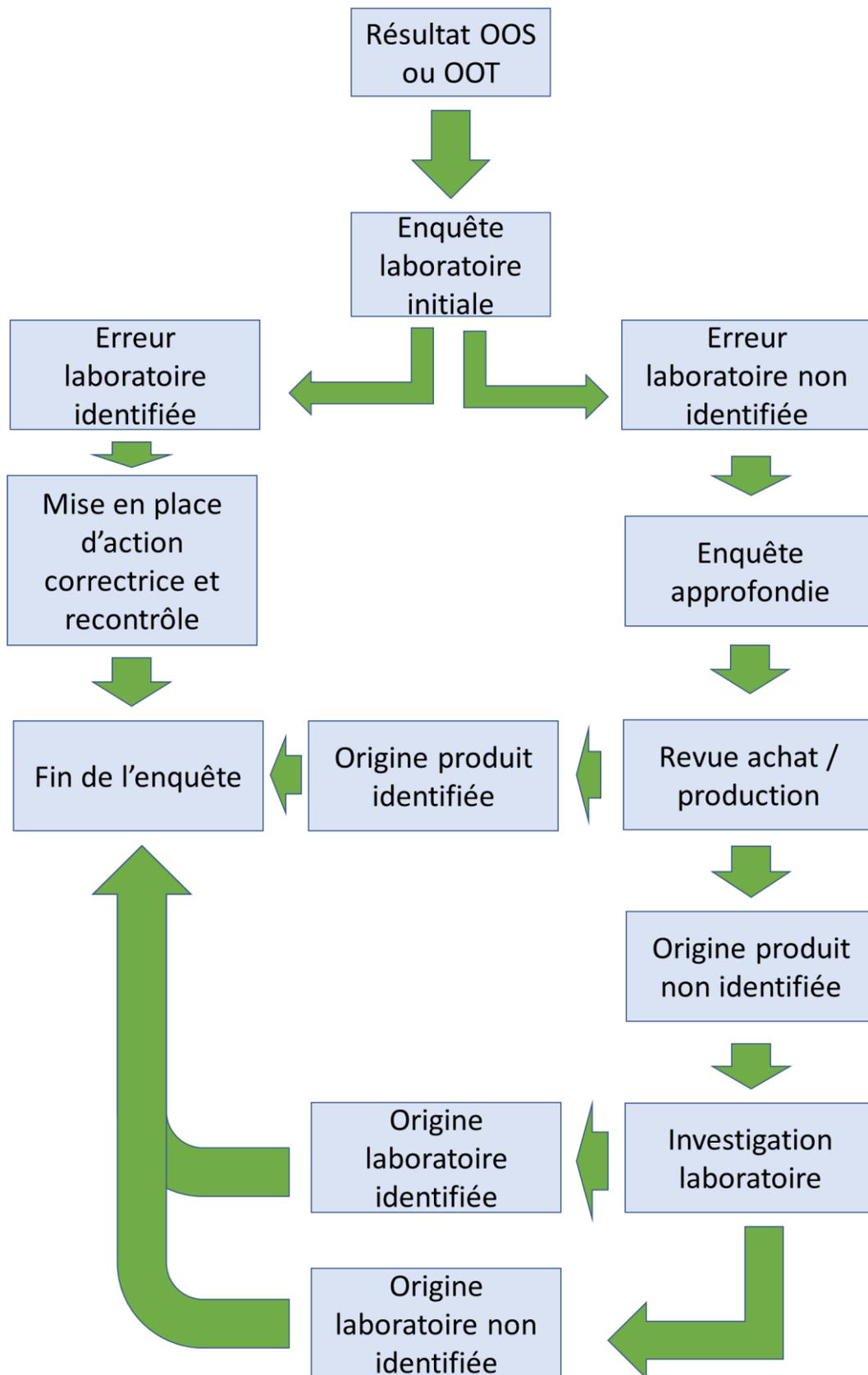


Figure 4 : Flux des OOS/OOT

Lorsqu'un résultat OOS / OOT est généré, l'analyste doit informer son responsable hiérarchique et une enquête laboratoire est ouverte pour déterminer l'origine de la non-conformité. Elle doit permettre de vérifier que les conditions opératoires et analytiques ne sont pas la cause du résultat OOS / OOT et donc de rapidement mettre en évidence (ou d'infirmer) la possibilité d'une anomalie de laboratoire. Lorsque cela est possible, l'enquête doit être réalisée avant le nettoyage des équipements et avant que les préparations ne soient jetées. Ainsi, des hypothèses sur des erreurs laboratoires ou des dysfonctionnements d'équipements peuvent être testées.

Si aucune erreur laboratoire n'a été mise en évidence, une enquête élargie est alors réalisée. Cette enquête comporte deux volets :

- La revue production / achat
- L'enquête laboratoire élargie

**La revue production** consiste en une revue documentée :

- Des dossiers de lot et de prélèvement
- Des équipements (qualification, calibration)
- La formation du personnel
- Des déviations enregistrées

**La revue achat** consiste à prendre contact avec le fournisseur pour que celui-ci diligente une investigation concernant la production des matières premières concernées.

Si la revue production / achat confirme l'origine produit, l'investigation est terminée et le produit rejeté. L'impact de cet OOS est vérifié pour s'assurer qu'il n'impactera pas d'autres lots.

Si la revue production / achat n'a pas permis d'identifier une cause première de l'OOS/OOT, alors une enquête laboratoire élargie doit être conduite.

Cette enquête peut explorer en détail toutes les causes d'erreurs de laboratoire en réalisant d'autres tests. Cela peut aller du *retest* au reprélèvement.

L'enquête laboratoire élargie peut conduire à 2 conclusions :

- Une cause laboratoire est identifiée : l'OOS / OOT est alors invalidé
- Les résultats du re-contrôle ne confirment pas l'OOS / OOT, mais aucune cause ou erreur de laboratoire n'a été identifiée. Dans ce cas, le résultat de l'OOS / OOT initial est reporté sur le CoA (certificat d'analyse)

Ainsi les OOS / OOT peuvent provenir d'une anomalie laboratoire. Si l'OOS se répète sur plusieurs lots, la question peut se poser quant à la pertinence du procédé de fabrication ou de la méthode analytique. Les causes racines des OOS peuvent se classer en cinq catégories suivant les 5M :

- **Matière** : par exemple dans le cas d'un réactif avec un titre erroné
- **Main d'œuvre** : en cas d'erreur du technicien
- **Milieu** : par exemple en cas de pollution du flacon
- **Matériel** : par exemple pour l'HPLC en cas de colonne trop utilisée
- **Méthode** : par exemple si l'écart se retrouve sur plusieurs lots. D'où l'intérêt de vérifier périodiquement les OOS pour la revue des validations.

Prenons l'exemple de l'analyse d'un solvant utilisé pour la recristallisation des substances actives. Il est contrôlé à réception par différents tests afin de vérifier la pureté : indice de réfraction (pour vérifier la molécule), teneur en eau par Karl Fischer, pureté par CPG (pour vérifier l'absence de volatils contaminants) et enfin résidu à l'évaporation par évaporateur rotatif. Il consiste à chauffer le solvant jusqu'à la température d'ébullition afin de vérifier l'absence de composés lourds.

Suite à l'ouverture de 3 OOS d'affilé sur ce test avec un résidu supérieur à la norme, les investigations ont démontré que le test n'était pas assez détaillé dans la monographie. En effet, du fait de l'imprécision de la méthode dans la monographie, cela laissait une marge de manœuvre aux techniciens qui ne travaillaient par conséquent pas tous de la même façon. En fonction de la manipulation, certains techniciens évaporaient tout le solvant et le résultat était alors conforme. D'autres n'évaporaient pas tout et un résidu de solvant restait au fond du ballon, rendant le test non conforme alors qu'il n'y avait pas de molécules lourdes.

Le plan d'action a par conséquent été de retravailler la méthode et de la revalider.

Cet exemple démontre l'importance de revoir périodiquement les OOS afin d'apprécier si les méthodes analytiques utilisées sont adaptées ou si elles nécessitent des modifications/ajustements qui pourront alors avoir un impact sur leur validation.

La revue des OOS est donc importante afin d'évaluer la validité des méthodes analytiques. En effet, si plusieurs OOS de lots différents proviennent de la même méthode, la question de la pertinence de la validité de la méthode peut se poser. Les OOS peuvent ainsi être appréciés comme des indicateurs de la validité des méthodes en routine.

Un autre indicateur pouvant être utilisé pour vérifier cette validité en routine est la revue d'un autre élément important du système assurance qualité que sont les *system suitability tests*.

### iii. Les *System suitability tests* (SST)

Les SST sont définis par l'ICH comme la vérification d'un système avant ou pendant l'analyse afin d'assurer la performance du système. Les tests sont basés sur le concept selon lequel les équipements, les opérations analytiques, les échantillons à analyser, constituent un système intégral qui peut être évalué (4).

Comme vu en partie « Cycle de vie des méthodes analytiques », celles-ci sont des méthodes vivantes qui évoluent en permanence. D'où l'importance des SST car ils vont permettre de vérifier le statut validé de la méthode en routine. Les critères SST doivent être conformes lors

des analyses en routine. En cas de non-conformité, les résultats analytiques sont invalidés et des actions correctrices doivent être mises en place avant réanalyse.

Différents SST peuvent être mis en place en fonction de la méthode analytique concernée :

- **Pour les méthodes non chromatographiques (23) :**

Des exemples de SST pouvant être mis en place pour les méthodes non chromatographiques telles que la spectrométrie infrarouge, la coulométrie et les dosages volumétriques sont présentés dans le tableau 3.

*Tableau 3 : Exemple de SST pouvant être mis en place pour les méthodes non chromatographiques*

Méthode analytique	SST pouvant être mis en place
Spectrométrie infrarouge	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La transmittance à 2000 cm<sup>-1</sup> est au minimum à 70%</li> <li>• La transmittance de la bande la plus importante n'est pas inférieure à 5%</li> </ul>
Teneur en eau par coulométrie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• De l'eau ou une solution standard d'eau à environ la même concentration que l'échantillon est mesurée par l'appareil</li> <li>• Le recouvrement est calculé</li> </ul>
Dosage volumétrique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le titre mesuré ne doit pas être supérieur ou égal à 10% du titre prescrit</li> <li>• La répétabilité de la détermination ne doit pas excéder 0,2%</li> </ul>

- **Pour les méthodes chromatographiques :**

- La résolution entre deux pics déterminés lors de la spécificité doit être si possible au minimum supérieur à 1,5. Si tel n'est pas le cas, le ratio pic/vallée peut être considéré
- Le facteur de discrimination (ratio pic/vallée) : celui-ci peut être utilisé dans le cas où une résolution de 1,5 entre un pic principal et le pic de l'impureté la plus proche n'est pas obtenue
- Facteur de symétrie du pic principal dans la solution témoin de quantification ou dans la solution essai. Ce paramètre est idéalement compris entre 0,8 et 1,5 : il est adapté en fonction des données de la validation
- Répétabilité de l'injection pour les dosages ou les impuretés
- La sensibilité par la vérification en routine du S/B

Les SST sont adaptés pour chaque méthode. En effet, ces tests permettent de s'assurer que le système présente la performance nécessaire à la bonne réalisation de l'analyse et la conserve tout le long de l'analyse. Si ces tests ne sont pas conformes, l'analyse ne peut être exploitée.

Afin de mettre en place un système de revue des validations efficace, les SST sont à prendre en compte car c'est un reflet de la validité de la méthode dans des conditions de routine.

La pertinence des tests est dépendante des instruments analytiques, leur adéquation avec la méthode d'analyse doit être démontrée et leur qualification vérifiée.

#### *iv. La qualification des appareils*

La qualification est définie dans les BPF comme une « opération destinée à démontrer qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus. Le concept de validation est parfois élargi pour comprendre celui de qualification » (27).

Elle peut être incluse dans la validation : en effet, un système ne peut être validé sans que chaque sous-système le composant ne soit qualifié.

Il existe quatre niveaux de qualification :

- **Qualification de conception ou établissement du cahier des charges (QC)** : il détaille les besoins de l'utilisateur de l'équipement. Ces besoins sont déterminés par la réglementation en vigueur ainsi que par les procédures internes à l'entreprise.
- **Qualification d'installation (QI)** : consiste à vérifier que l'appareil correspond bien physiquement à ce qui était spécifié dans le cahier des charges, la bonne installation sur le plan environnemental et documentaire. Par exemple pour une chromatographie en phase gazeuse, cela correspond à vérifier les arrivées de gaz, leur présence avec le bon débit en sortie, les câblages électriques, la place disponible sur la paillasse...
- **Qualification opérationnelle (QO)** : en général c'est cette étape qui comporte le plus d'actions et de tests. Il s'agit de vérifier toute la plage d'utilisation d'un appareil. Dans le cas de la CPG, à cette étape vont être vérifiés : les débits des gaz, la linéarité/répétabilité de l'injecteur, les températures du four...
- **Qualification de performance (QP)** : correspond à la dernière étape de qualification. Les tests utilisés correspondent à l'utilisation en routine. L'équipement est vérifié en fonctionnement normal sur une durée prenant en compte les opérations d'utilisation critique ou à risque potentiel. Lors de cette étape, la documentation requise doit être présente (instruction d'utilisation, de maintenance, ...).

**Requalification** : tout comme les méthodes analytiques, les appareils vivent et des changements peuvent intervenir sur ces appareils. Cela peut aller du remplacement d'une pièce à un changement affectant tout le système. En cas de déplacement, une requalification est à envisager.

La qualification des appareils est par conséquent un paramètre important à prendre en compte pour les revues et le système assurance qualité des validations analytiques.

## v. Les Standards

Un autre élément important à prendre en compte pour la mise en place d'une revue des validations d'un site industriel est l'étude des standards. En effet, leur qualité revêt une importance cruciale pour les méthodes analytiques. Ils vont permettre par exemple de quantifier, identifier des impuretés ou des substances actives, d'étalonner les appareils et d'être support des SST. C'est pourquoi ils assurent, comme les appareils, les bonnes conditions en routine de la méthode analytique.

Au niveau du laboratoire de contrôle qualité, 5 catégories de substances de références sont utilisées (28) :

- **Les standards officiels (OS)** sont des substances obtenues auprès des organismes internationaux tels que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), des pharmacopées (Ph. Eur., USP) ou d'autres organismes officiels. Leur utilisation est celle décrite dans les monographies officielles. Elles peuvent également servir pour l'établissement d'un standard de travail.
- **Les étalons primaires (PS)** sont des substances d'identité et de pureté garantie ayant le degré de pureté le plus élevé possible (idéalement supérieure ou égale à 99,5% pour une substance active et 98,0% pour les autres produits). Cette pureté est caractérisée selon ses propriétés physiques et chimiques. Aucun standard officiel n'est disponible pour ces substances. Ces dernières sont obtenues soit par une voie de synthèse différente du produit courant soit à partir d'un lot de production purifié si nécessaire. Ils concernent la substance active, les intermédiaires de synthèse, les *starting materials* (SM) ou tout autre substance à usage quantitatif pour laquelle il n'existe pas d'OS. Leur utilisation est en principe limitée à l'établissement des preuves de structure, des constantes physiques (comme l'absorbance ou le pouvoir rotatoire) et pour la détermination du titre des étalons de référence (WS).
- **Les étalons de référence (WS)** sont des substances d'identité et de pureté définie et dont la traçabilité des résultats est assurée par rapport à un PS, OS, ou une monographie officielle. Ils sont obtenus à partir d'un lot de fabrication de pureté satisfaisante, éventuellement purifié. Ils sont utilisés pour l'analyse de routine des produits pharmaceutiques (substance active, intermédiaires et produits finis). Ils sont utilisés en particulier pour les tests quantitatifs et les tests d'identification.
- **Les standards de référence (RM)** sont des produits identifiés et de qualité satisfaisante, obtenus à partir d'un lot de fabrication contenant les impuretés étudiées. Ils peuvent provenir d'une synthèse spécifique ou d'un mélange synthétique de lots identifiés. Les RM sont utilisés pour les analyses de routines suivantes :
  - Identification des substances apparentées, des produits de dégradations ou des intermédiaires de synthèse
  - Confirmation de l'identité d'un pic chromatographique particulier par son temps de rétention
  - Réalisation des tests de performance du système

- **Les substances étalons** sont des substances utilisées pour étalonner ou contrôler des réactifs ou des appareils de mesure. Elles sont fournies avec un certificat d'analyse fournisseur.

Ainsi, la visibilité sur l'utilisation dans de bonnes conditions de ces différents standards permet de maintenir un niveau de qualité satisfaisant pour l'utilisation en routine des méthodes validées. C'est pourquoi intégrer ce paramètre pour la mise en place d'un système de revue des validations revêt son intérêt. Cependant, les standards sont également importants pour les méthodes pharmacopées, c'est pourquoi élargir la revue des standards aux méthodes non validées peut également être intéressant.

Dans cette première partie, les éléments importants pouvant impacter la validité des méthodes analytiques et pouvant être étudiés dans le cadre de la revue des validations ont été présentés. Les paramètres les plus directs sont les paramètres définis par l'ICH étant vecteurs de la validation et étant les requis réglementaires. Cependant, d'autres paramètres permettent également de vérifier la validité en routine comme les SST et les OOS ou sont garant de la bonne continuité des analyses comme les qualifications des appareils et les standards. D'autre part, une bonne gestion de la documentation est également à prendre en compte pour l'évaluation des validations des méthodes analytiques d'un site.

Ainsi, chaque industriel aura le choix des paramètres à étudier pour effectuer une revue efficace des validations pour son site. Les paramètres essentiels étant les paramètres ICH et les autres à l'appréciation de l'utilisateur.

Une fois l'évaluation effectuée, il pourra prioriser les plans d'actions par le biais du plan directeur des validations analytiques.

### 3. Le plan directeur de validation

Comme indiqué dans la partie 1 de l'annexe 15 des BPF, toutes les activités de validation doivent être planifiées et documentées par un Plan Directeur de Validation (PDV) ou un document équivalent (25).

C'est un document qui présente la politique et les actions mises en œuvre pour documenter les phases de qualification et de validation des systèmes ou d'une partie du système. Le terme système est utilisé au sens large et s'applique indifféremment à un équipement, un procédé, une méthode ou une installation.

**L'objectif du PDV est de décrire :**

- L'approche qualification/validation
- La stratégie de qualification et de validation
- La façon dont sont exécutées, vérifiées et modifiées les activités
- Les tâches et les responsabilités des activités de validation et de qualification

- La documentation mise en place lors des activités de qualification/validation et le suivi de l'état de qualification/validation des systèmes

**Le PDV s'applique :**

- À tous les procédés, procédures et méthodes ayant un impact sur la qualité des produits (SM, soit les matières premières de début de fabrication soumises au cGMP, PSO, PF) qui doivent être validés.
- Aux équipements qui participent à la fabrication, au conditionnement et aux contrôles analytiques des produits (MP, PSO, PF) qui doivent être qualifiés.

L'approche de validation du plan maître de validation est présentée dans la figure 5.

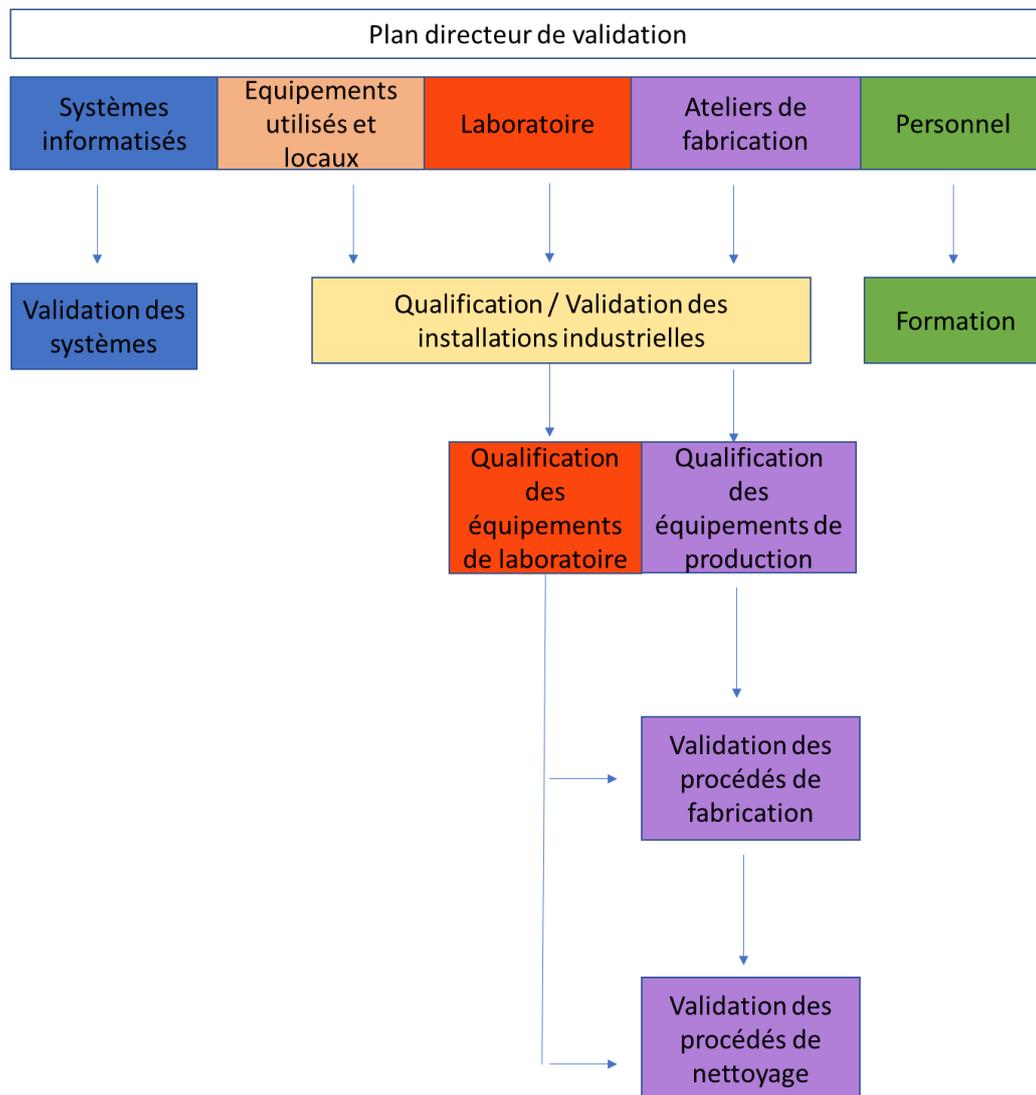


Figure 5 : Plan directeur de validation : approche de validation

## Responsabilités :

La responsabilité des projets de qualification et de validation est transversale. Elle peut nécessiter la mobilisation d'une équipe pluridisciplinaire. Le CQ est responsable de la validation des méthodes analytiques (partagé avec le développement analytique), des études de stabilité, de la validation des systèmes de laboratoires. Il a également un rôle d'expertise et de propriétaire pour la validation des systèmes informatisés. Enfin, il a un rôle d'expertise sur la validation des procédés de fabrication, les validations de nettoyages et les utilités (air, eau, gaz). La production sera responsable des validations des procédés de fabrication, des qualifications d'équipement de son secteur ainsi que des validations de nettoyage. L'assurance qualité est approbatrice des points décrits précédemment.

Pour chacune de ces activités, un document délivrable existe.

Le plan de validation d'intérêt dans le présent document est le PDV des méthodes analytiques. Il décrit la stratégie de validation, les responsabilités et le planning associé aux activités de validation analytique. Il spécifie, le type de validation qui doit être conduit, les étapes critiques du système, les critères d'acceptation et le périmètre d'application de la validation. Tout écart au plan de validation est documenté avec une justification appropriée.

Le PDV a pour objectif de définir le planning annuel concernant :

- Les validations des méthodes analytiques
- Les études de stabilité selon l'ICH

Il reprend en outre la politique de validation avec les services en charge, le contrôle des changements et la gestion des déviations concernant les validations analytiques. Il fait également référence à des documents existants.

Le plan permet chaque année d'apprécier le bilan des actions effectuées sur l'année précédente (validations, compléments de validation) et les actions planifiées sur l'année suivante ainsi que les projets abandonnés (par exemple en cas d'arrêt de production d'un produit, les validations ne sont plus pertinentes).

Ainsi, l'intérêt de ce plan dans le cadre de la revue des validations est de pouvoir planifier et répartir les différentes actions suite aux écarts détectés durant l'évaluation.

## 4. Conclusion

Les validations analytiques sont primordiales sur un site pharmaceutique, à la fois pour la qualité intrinsèque des produits mais également en termes d'importance de présence tout au long du cycle du produit. De plus, les méthodes analytiques étant vivantes, leur évolution doit être prise en compte d'où le fait que la revue des validations des méthodes analytiques est un système essentiel pour un site pharmaceutique.

La revue peut être accès à la fois sur des paramètres intrinsèques aux prérequis réglementaires (ICH / ANVISA) mais également sur des paramètres plus généraux faisant partie du système d'assurance qualité.

La méthodologie d'évaluation des validations et la périodicité sont à l'appréciation des industriels, étant donné qu'aucun texte réglementaire ne la définit ou appose des exigences.

Les écarts constatés peuvent être corrigés par des plans d'actions décrits dans le plan directeur de validation des méthodes analytiques du site.

La partie suivante a pour objectif de présenter une application de mise en place d'un système de revue sur un site industriel pharmaceutique ainsi que de présenter un exemple de méthodologie pour une revue de validation et la mise en place d'un des plans d'action associé.

## Partie 2 : Application à une revue périodique de validation des méthodes analytiques sur un site fabricant de SA à usage pharmaceutique

Un système de revue des validations de méthode analytique a été mis en place sur un site fabricant de SA catégorisées MPUP (matières premières à usage pharmaceutique).

Ce site maîtrise les 3 procédés de fabrication des SA : extraction végétale, synthèse chimique et biotechnologies.

Le champ d'application de l'étude a été restreint volontairement aux produits obtenus par extraction végétale et synthèse chimique ainsi qu'aux méthodes de plus de 5 ans. En effet, ces validations sont plus à risque de présenter des écarts, étant les méthodes les plus anciennes.

L'évaluation du site s'est mise en place en plusieurs étapes (Figure 6).

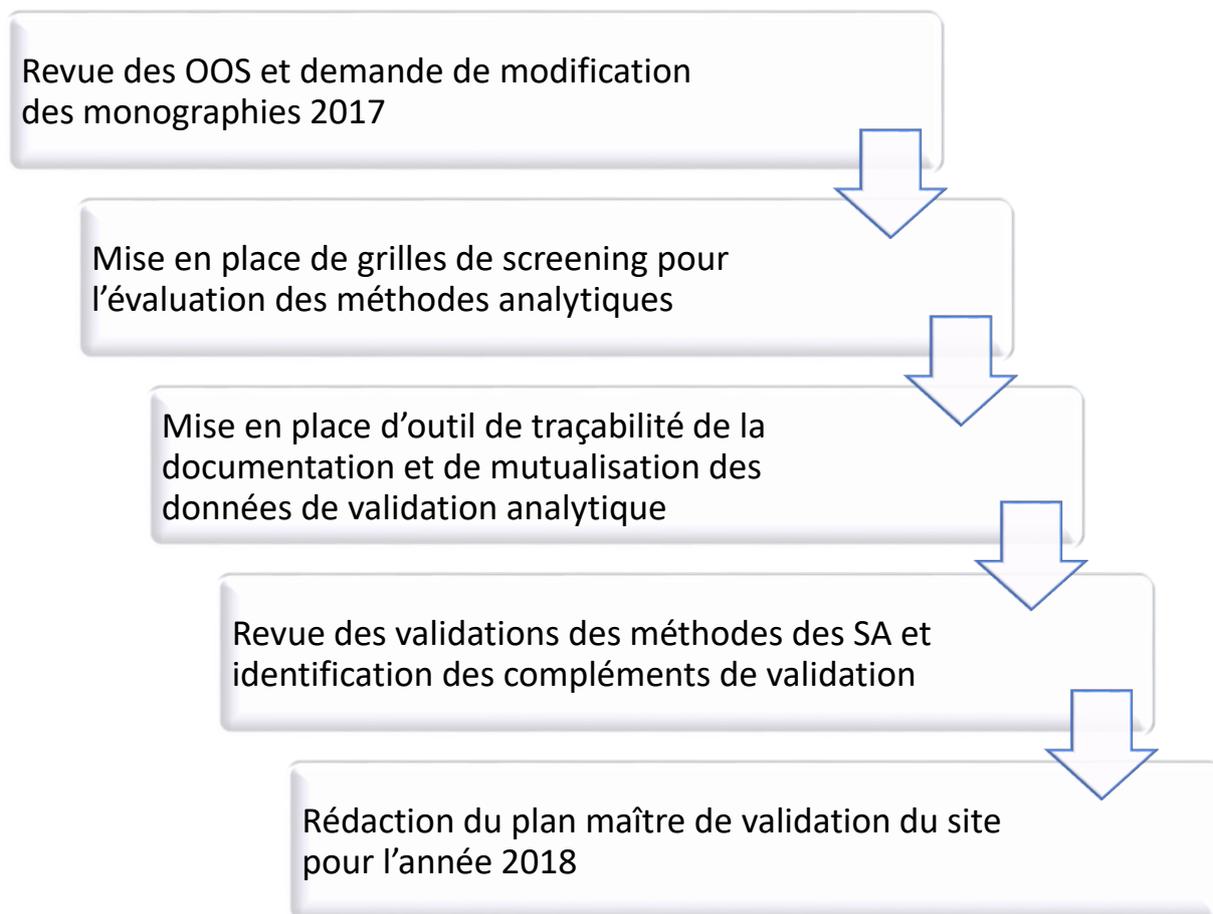


Figure 6 : Etapes de mise en place d'un système de revue de validation des méthodes analytiques sur un site MPUP

Dans un premier temps, la revue des OOS et des demandes de modification des monographies ont été effectués, puis des outils ont été mis en place afin de faciliter le travail de revue. Suite

à cela, la revue a été effectuée sur les validations des méthodes analytiques concernant les SA avec identification des compléments ou revalidations éventuelles. Enfin, les plans d'actions ont été mis en place par le biais du plan maître de validation du site.

## 1. Revue des OOS et des demandes de modification des monographies sur l'année 2017

### a) Revue des OOS

Comme vu précédemment, les OOS du laboratoire sont un bon indicateur de la validité en routine des méthodes. C'est pourquoi, dans un premier temps la stratégie a été de revoir tous ceux de 2017 concernant le laboratoire afin de vérifier l'absence d'impact sur la validité des méthodes analytiques.

Les résultats de cette étude pour l'année 2017 ont montré aucun OOS remettant en cause les validations des méthodes du laboratoire (Figure 7 et Annexe 1). La plupart des OOS provient du matériel ou de la main d'œuvre de façon ponctuelle. De plus, la majorité survient sur des méthodes pharmacopées, ce qui ne remet pas en cause la validité des méthodes.

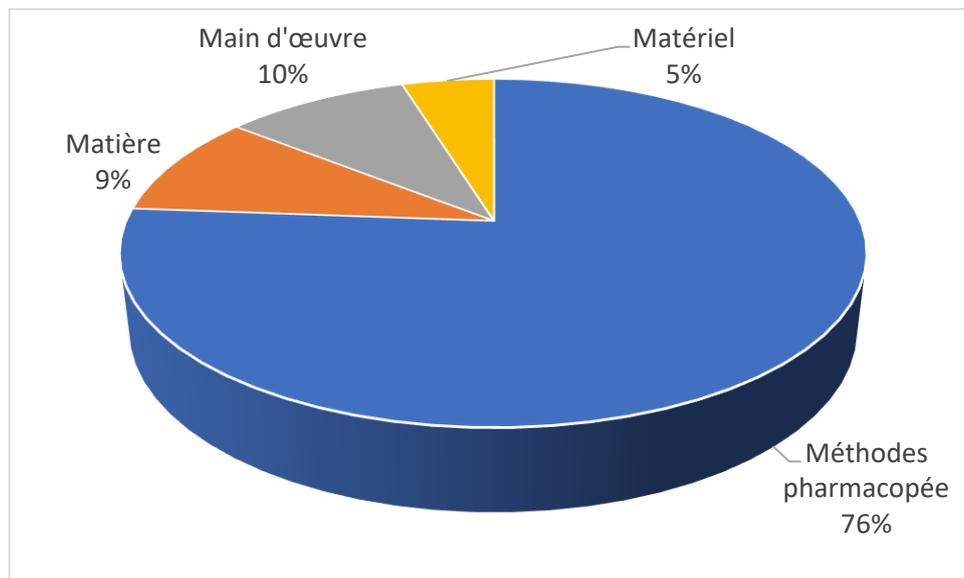


Figure 7 : Etat des lieux des causes racines des OOS sur l'année 2017

## b) Revue des demandes de modification des monographies

Les modifications des méthodes pouvant impacter les validations, une revue de toutes les demandes de modification des monographies a été effectuée.

Le but de cette revue était de pouvoir donner une première réponse aux auditeurs quant au contrôle des changements apportés aux méthodes sur l'année 2017. En effet, l'absence de système de revue faisait l'objet d'un écart au niveau du site.

L'entièreté des demandes de modification a ensuite été évaluée sur toutes les monographies et toutes les années lors de la revue individuelle de chaque méthode comme cela sera vu ultérieurement (Figure 8 et Annexe 2).

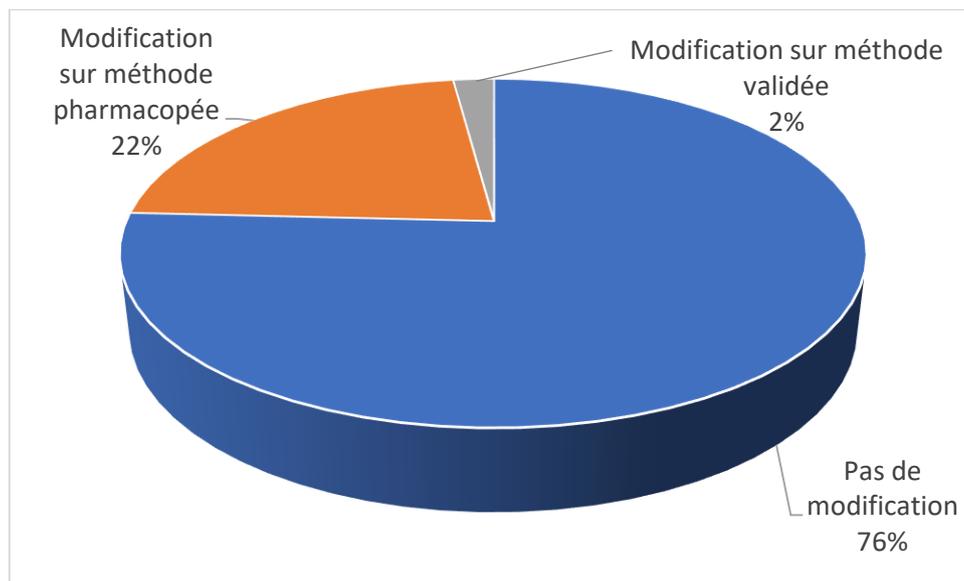


Figure 8 : Etat des lieux des demandes de modification

Les modifications effectuées sur les monographies en 2017 sont toutes contrôlées et ne remettent pas en cause la validité des méthodes. En effet, la plupart concerne l'ajout de précisions d'informations ou l'utilisation de méthodes pharmacopées, ce qui ne remet pas en cause les validités des méthodes.

Les deux seuls changements impactant des méthodes validées ont été contrôlés :

- Le premier concerne la modification de la méthode des solvants résiduels du produit 18 et a été contrôlé par une revalidation de la méthode.
- Le second changement concerne le remplacement de la méthode de quantification de l'impureté D du produit 26 par celle de la Ph. Eur.. Cette méthode n'étant pas déclarée à l'USP, elle est en cours de validation pour les produits US.

La mise en place des méthodes « test des particules étrangères » n'a pas d'impact car il s'agit de méthodes internes effectuées à titre informatif. Elles ne nécessitent pas de validation.

## 2. Mise en place d'outil de traçabilité de la documentation et de mutualisation des données de validation analytique

Suite à la revue des OOS et des demandes de modification des monographies, et afin de préparer la mise en place des revues des validations des méthodes analytiques, des outils de traçabilité de la documentation et de mutualisation des données de validation analytique ont été mis en place.

En effet, chaque validation doit être accompagnée d'un protocole, d'un rapport et des données brutes.

Lors de la mise en place des revues, un réel besoin au niveau du suivi de la documentation sur le site étudié a été constaté.

Les validations analytiques sont effectuées au sein du service de développement analytique ou de contrôle qualité. Cependant, la gestion de cette documentation n'était pas concertée : chaque service gérait sa documentation sous forme de listing ou de tableau ce qui amenait des difficultés pour être toujours à jours et une perte de temps en recherche de la documentation. Tout ceci entraînait un manque de réactivité lors des audits. De plus, cette documentation est partagée entre le développement, le CQ et le réglementaire. Elle doit par conséquent être facile à consulter par les différents services.

Un outil de traçabilité des documents ainsi qu'un outil de mutualisation des données ont été mis en place.

Le but de l'outil de traçabilité est de permettre le suivi de la documentation relative aux validations analytiques et se présente sous la forme d'un tableau Excel.

Ce tableau est divisé en 4 parties et englobe les MP, PSO et SA. Son objectif est de classifier de façon exhaustive l'ensemble de la documentation analytique (Tableau 4).

Tableau 4 : Structure de l'outil de traçabilité de la documentation des validations analytiques

Parties	Sous-parties	Commentaire
1) Informations générales	Secteur	Synthèse ou extraction végétale (les deux secteurs étudiés pour la revue)
	Catégorie	MP, PSO, PF
	Référentiel	Si la méthode a été validée à partir d'une pharmacopée : européenne, USP, chinoise, japonaise, russe, ou NA si la méthode n'a pas de référentiel
	Code	Chaque produit est rattaché à un code
2) Informations concernant la validation	Test	Substances apparentées, solvants résiduels ... (afin de savoir rapidement à quel test la validation correspond)
	Validité de la méthode	Décrit si le document correspond à une validation complète, un complément de validation, une étude complémentaire
	Référence du protocole de validation	NA
	Référence du rapport	NA
	Le titre exact de l'étude	Pour expliciter la validation
	La validité du document de validation	Il a été choisi de tracer également les documents obsolètes afin de respecter l'intégrité des données
	La date de validation	Afin de pouvoir évaluer l'ancienneté de la méthode
	Le service responsable de la validation	NA
	La localisation du rapport et du protocole	NA
	La localisation du rapport et du protocole informatisé	NA
	La localisation des données brutes	NA

	Les références des données brutes	NA
3) Informations concernant la revue des validations	La date de la revue	Importante pour déterminer l'item suivant
	La date de la prochaine revue	NA
4) Informations concernant les transferts	Reprends les mêmes informations que les validations adaptées aux transferts	Lorsque la validation n'a pas été effectuée par le service utilisateur

Ainsi le but est de permettre aux différents services de toujours savoir où est la documentation relative aux validations. Ce type d'outil est important pour l'industriel afin de ne pas perdre les documents et de garder une traçabilité.

Ce premier outil permet de tracer l'ensemble de la documentation des validations analytiques du site, il est exhaustif et comporte 320 documents. Afin de compléter cet outil de traçabilité, un second outil l'intégrant a été créé.

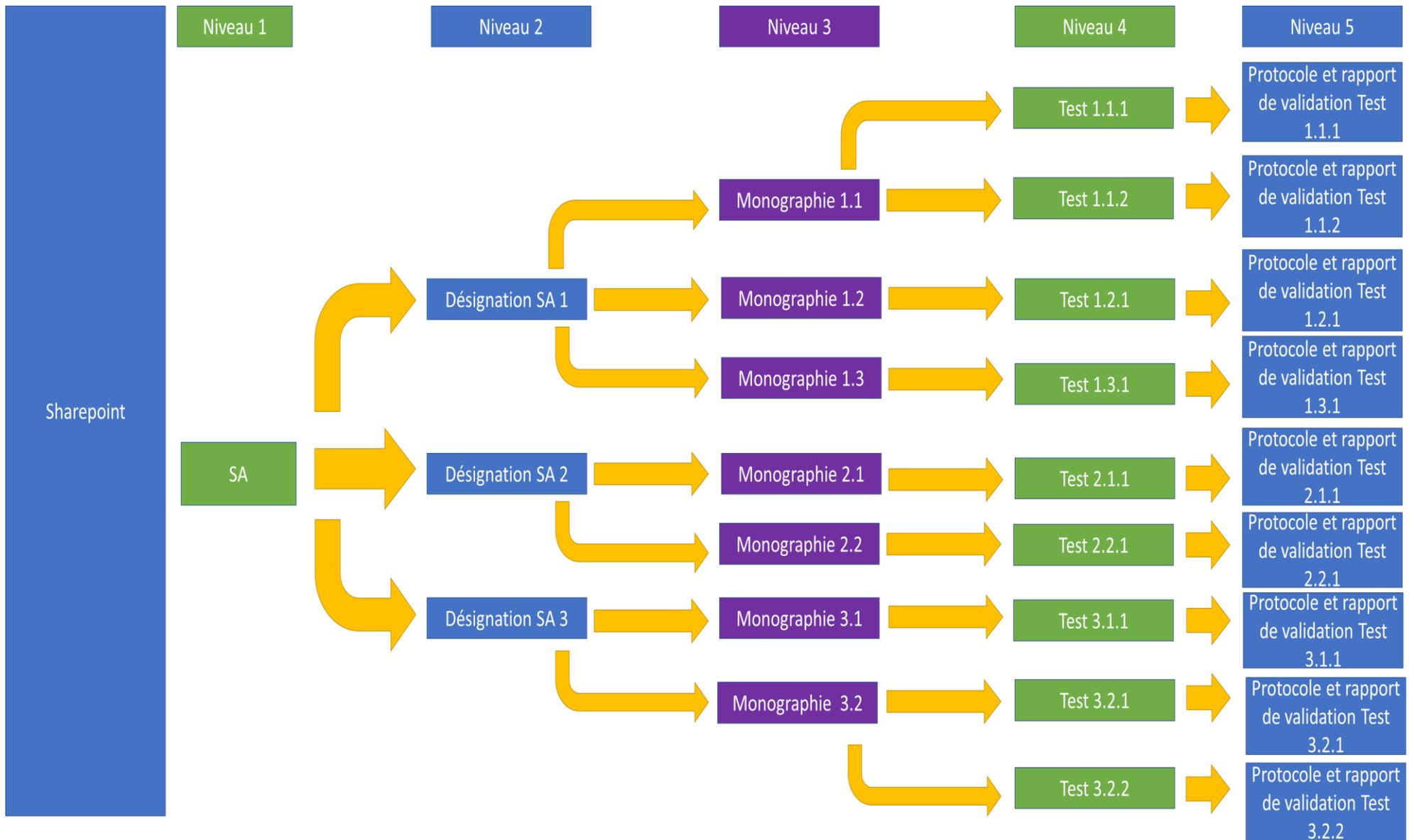
Cet outil de mutualisation des données a été construit grâce au logiciel *SharePoint* qui est un outil collaboratif. Il est facilement configurable et permet de stocker des documents sur un serveur et ainsi de les partager avec différentes personnes. Cet outil est sécurisé par le central et suite à l'évolution du site, aucun document partagé ne sera autorisé mais uniquement des dossiers *Sharepoint*. En effet, ce logiciel permet de donner des accès contrôlés aux utilisateurs (lecture seule, lecture avec droit de modification, administrateur), ce qui n'est pas le cas des documents partagés Windows qui permettent seulement d'autoriser l'accès complet ou de ne pas donner d'accès.

L'outil a été construit en plusieurs niveaux comme schématisé dans la figure 9.

- **Premier niveau** : SA, MP et PSO
- **Deuxième niveau** : Les désignations des produits SA, MP et PSO
- **Troisième niveau** : Les monographies internes. En effet, chaque validation est réalisée par rapport à une méthode de routine décrite dans une monographie interne. Ainsi la validation pourra correspondre à une monographie de référentiel (Ph. Eur., USP, Japon) ou à une monographie de test complémentaire. Il est important de savoir quelle est la correspondance entre la validation et la monographie. En effet comme vu précédemment, la correspondance entre une validation et une méthode de routine doit être trouvée rapidement.
- **Quatrième niveau** : Les tests. Chaque monographie fait référence à un certain nombre de tests qui font l'objet d'une validation ou non selon que la méthode de routine suit la pharmacopée ou non. De ce fait chacun des tests devra être présent et comporter une prise en main ou une validation.
- **Cinquième et dernier niveau** : Les rapports et protocoles de validation ou de prise en main des pharmacopées. Ils doivent pouvoir être présentés à tout moment.

Les revues de validations ont également été incluses dans cet outil.

Les données brutes n'ont pas été intégrées car le travail était trop important pour les mettre à disposition. Cependant, il serait également intéressant de les avoir à disposition de façon informatisée. Enfin, il est possible de les retrouver facilement avec l'outil de traçabilité décrit plus haut.



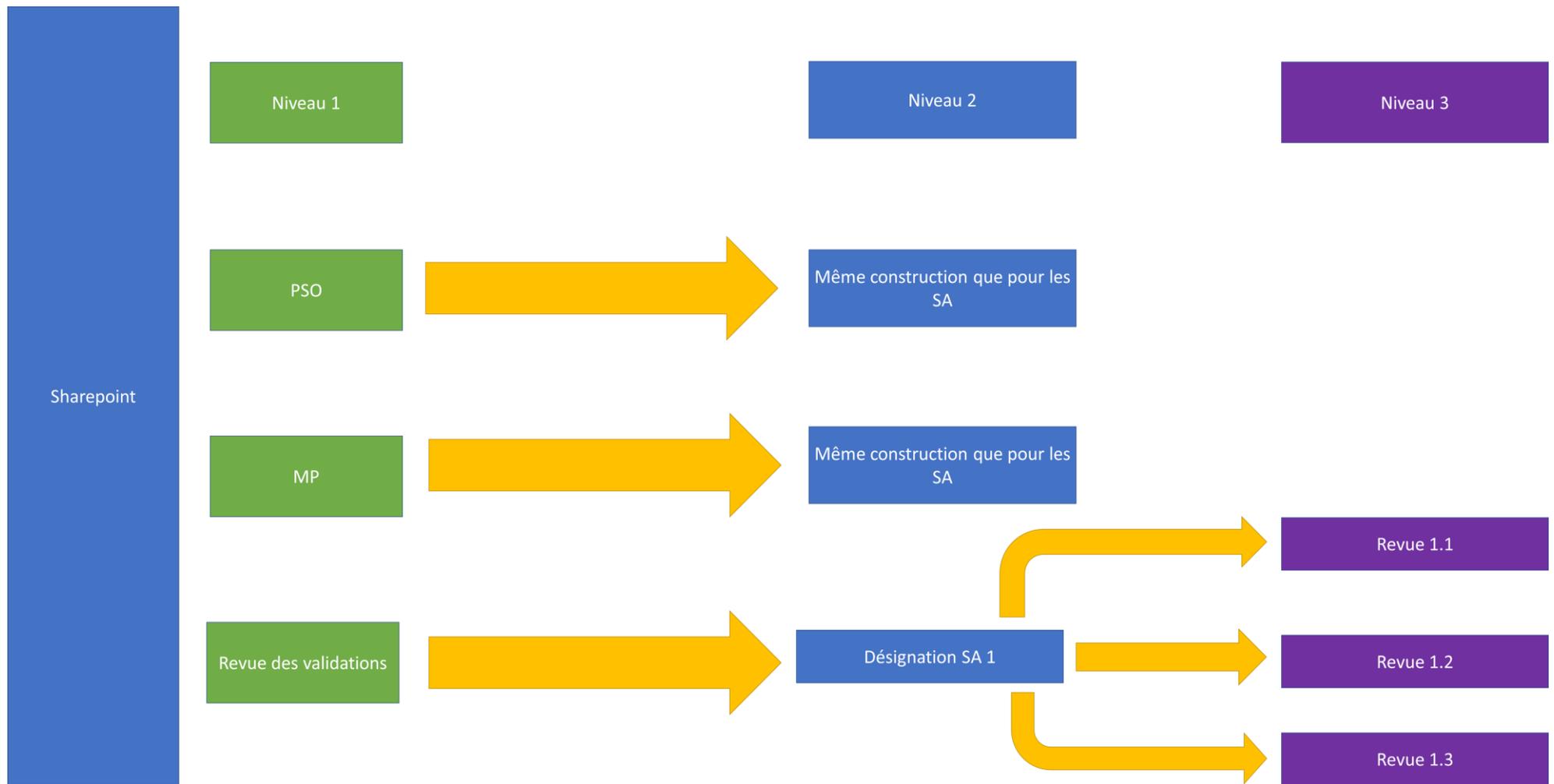


Figure 9 : structure de l'outil de mutualisation des données Sharepoint

Afin de pérenniser l'utilisation des deux outils, le *sharepoint* doit être incrémenté après chaque validation par les 2 services concernés : le contrôle qualité chimie et le développement analytique. Pour centraliser le travail, une personne par service sera responsable de cet outil.

L'incrémentation se déroule comme présenté dans la figure 10 : chaque document est vérifié selon les points présentés précédemment, les données sont saisies dans l'outil de traçabilité, puis chaque document qui n'était pas déjà préalablement informatisé est scanné et intégré dans le *sharepoint*.

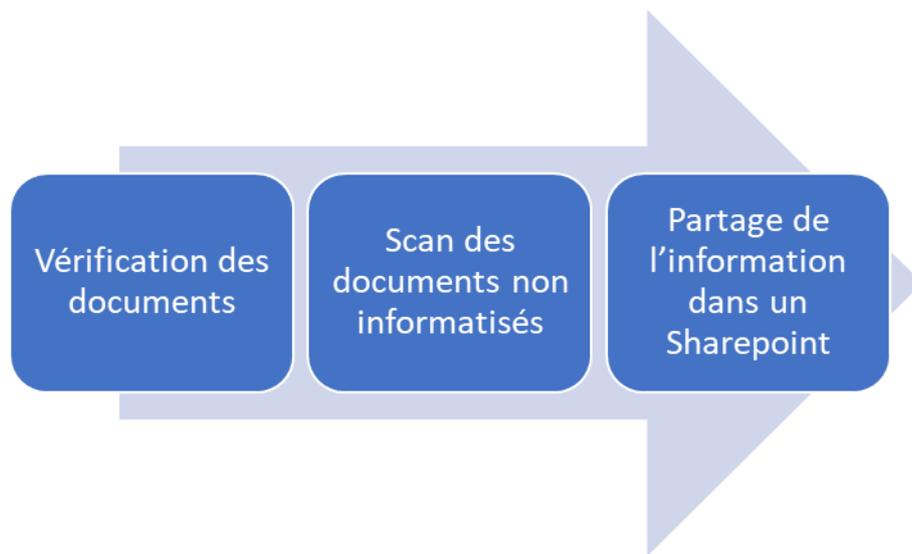


Figure 10 : Méthodologie d'incrémentation des outils

Le contrôle des accès au *sharepoint* est crucial afin de conserver une fiabilité des données.

Pour cela, une autorisation administrateur sera accordée aux deux responsables des services présentés précédemment afin d'incrémenter la base de données.

Les autres utilisateurs du contrôle qualité et du développement ainsi que les utilisateurs du réglementaire auront accès à la base de données en lecture seule. De cette façon, ils auront accès aux documents mais ne pourront pas les modifier.

Ces deux outils permettent d'avoir un accès facilité à la documentation des validations, que ce soit pour le contrôle qualité, le développement analytique et le réglementaire. Tout ceci avec un accès contrôlé, ce qui permet un gain de temps et d'argent ainsi qu'une amélioration de la qualité de la gestion documentaire des documents de validation au niveau du site.

### 3. Mise en place de grille de screening pour l'évaluation des validations des méthodes analytiques et critères évalués sur le site

Suite à la mise en place des outils de traçabilité et de mutualisation des données des validations analytiques, l'étape suivante est de préparer l'évaluation à proprement parler des validations analytiques.

Afin d'effectuer une évaluation rapide et exhaustive des méthodes analytiques du site, des grilles de screening ont été mises en place pour chaque type de méthode validée (méthodes Karl Fischer (KF), potentiométriques et chromatographiques) en reprenant chaque paramètre indispensable pour les référentiels ICH Q2(R1) et ANVISA.

L'objectif est de rendre plus rapide l'évaluation des rapports de validation analytique par le partage des référentiels et le listing des paramètres.

Ces grilles sont présentées en annexe 3 et reprennent les méthodes employées et les critères évalués sur le site et présentés ci-dessous (22).

#### a) *Spécificité*

En chromatographie, la spécificité est démontrée en utilisant des solutions contenant les impuretés d'intérêt ou des solutions dopées et en récupérant le chromatogramme ainsi obtenu. Il a été fixé pour la revue, une résolution minimale de 1,5 entre le pic principal et ceux des impuretés et une résolution de 1,0 entre 2 impuretés afin de démontrer qu'une séparation suffisante est obtenue entre les différents éléments.

Pour la potentiométrie et le Karl Fischer, ces méthodes n'étant pas spécifiques du produit, ce paramètre n'est pas à démontrer.

#### b) *SD/SQ*

Sur le site la méthode employée pour déterminer ces 2 paramètres, est la méthode du Signal / Bruit qui est la méthode la plus facile d'utilisation en chromatographie.

Deux tests supplémentaires à ceux demandés par l'ICH sont réalisés afin de s'assurer une sécurité supplémentaire :

- La vérification du Signal / Bruit expérimentalement
- La répétabilité du SQ

Lors de la revue, l'absence de vérification du SQ a été considérée comme une remarque et non un écart. Seule la détermination a été vérifiée étant donné que c'est un prérequis ICH et ANVISA.

Pour les méthodes potentiométriques et Karl Fischer, ces paramètres n'ont pas besoin d'être vérifiés.

### *c) Linéarité*

Seuls les paramètres essentiels de l'ICH et de l'ANVISA ont été pris en compte, c'est-à-dire que la linéarité couvre les concentrations requises sur 5 points minimums entre 80 et 120 % de la concentration nominale pour les dosages et du SQ à 120% pour les impuretés. La qualité de la régression a été vérifiée avec comme critères  $r > 0,999$  pour les dosages et  $r > 0,997$  pour les impuretés. En effet, les autres requis ont été considérés comme des écarts documentaires, car les résultats peuvent être retrouvés par le retraitement des données brutes.

### *d) Fidélité*

La fidélité est composée de 3 paramètres distincts.

#### **La répétabilité**

Le site utilise la seconde méthode présentée dans la partie I. 2.b.v (6 répétitions à 100% de la concentration nominale), c'est donc celle qui figure dans la grille de screening.

#### **La précision intermédiaire**

Il a été statué pour la revue de vérifier qu'il y avait à minima 2 séries de 6 déterminations ou 4 séries de 3 afin d'être statistiquement significatif. Actuellement, 4 séries de 3 déterminations en faisant varier au moins 1 paramètre entre les séries est préconisé.

#### **La reproductibilité**

Elle a fait l'objet d'une évaluation lorsque la précision intermédiaire n'était pas disponible afin d'apprécier si elle pouvait la remplacer. Les normes sont de 6 séries de 3 déterminations.

### *e) Exactitude*

Pour les méthodes chromatographiques, la méthodologie des dopages en impuretés est utilisée. C'est par conséquent elle qui est indiquée dans la grille de screening.

Pour la potentiométrie, une comparaison du titre potentiométrique avec le titre obtenu avec une méthode orthogonale (deuxième méthode utilisant une technique différente) ou une comparaison du titre théorique calculé au titre expérimental sont effectués.

Pour les teneurs en eau, la méthodologie des dopages est également appliquée mais avec des quantités d'eau connues.

Pour ce paramètre, le nombre de détermination devait être suffisant et le recouvrement devait être compris dans les critères d'acceptation.

#### *f) Robustesse / Stabilité des solutions*

Pour ce paramètre, le critère était sa présence dans les dossiers de validation. En cas d'absence, il n'a été considéré comme un écart que pour les produits à destination du Brésil.

Il en va de même pour la stabilité des solutions.

### 4. Les différents paramètres étudiés pour les revues individuelles des validations analytiques

Suite à la mise en place des grilles de screening et des outils de traçabilité documentaire, un cahier des charges a été mis en place afin d'apprécier la conformité des validations de chaque méthode analytique. Les paramètres suivants ont été étudiés (Figure 11) :

- Accord entre la validation et la méthode de routine

Le but était de vérifier que la méthode utilisée en routine correspondait bien à la méthode validée pour chaque validation. En effet, comme vu lors de la partie sur la documentation des validations analytiques, une validation s'applique à une méthode bien définie.

- Traçabilité documentaire

L'objectif de ce point était de contrôler que chaque méthode validée comportait bien un protocole, un rapport et les données brutes associées. Les rapports et protocoles étaient ensuite tracés dans l'outil Excel de traçabilité documentaire et scannés pour être intégrés au *sharepoint* décrit précédemment.

- Paramètres de validation de la méthode

Les paramètres de validation de la méthode ont été expertisés par le biais du référentiel ICH Q2(R1) et de l'ANVISA et selon les grilles de *screening* et les spécifications présentées dans la partie précédente.

- *System suitability test*

Pour ce paramètre, le critère était que chaque méthode comporte bien un SST et celui-ci était adapté à son utilisation.

- Qualification des appareils

Lors de la revue pour chaque méthode validée, la présence des documents de qualification (QI, QO et QP) a été vérifié.

La vérification portait également sur le contrôle que chaque qualification était adaptée au besoin de l'équipement notamment pour les températures des fours des appareils (température de la méthode bien couverte par la gamme de qualification) et les appareils particuliers.

- Standards

Le but de la revue des standards était de vérifier que chaque standard était bien utilisé dans ses conditions normales d'utilisation et que notamment sa caractérisation et sa pureté correspondait bien à son usage. Les conditions de conservation et leur date limite d'utilisation devait être bien respectées.

- Stabilité des échantillons

L'accord entre la monographie du produit et les stabilités des solutions validées dans la méthode a été contrôlé.

- Modifications de la méthode

Pour chaque méthode validée, l'expertise a porté sur le fait qu'aucune modification au cours de la vie de la méthode analytique n'a eu un impact sur le statut validé de la méthode.

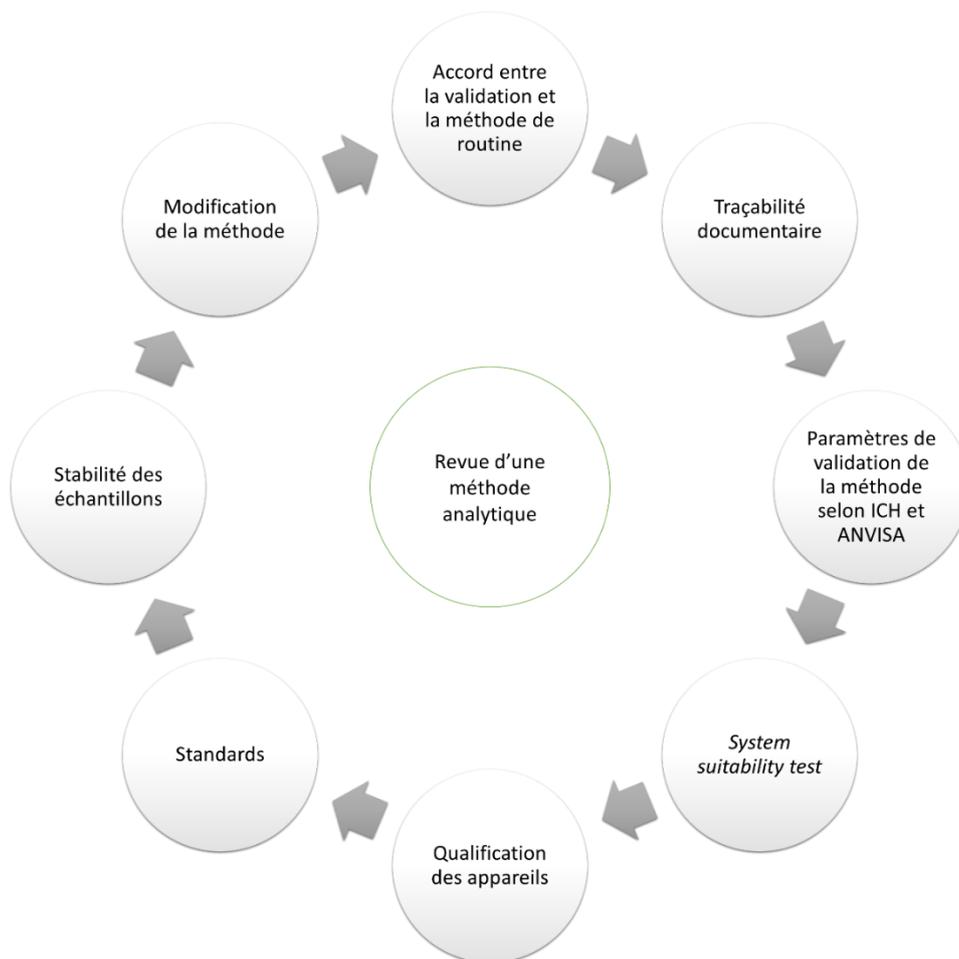


Figure 11 : Paramètres étudiés pour les revues individuelles des validations des méthodes analytiques

## 5. Etat des lieux des écarts et plans d'actions mis en place suite à la revue des validations des méthodes analytiques

Suite à l'établissement du cahier des charges, 51 méthodes ont été revues selon les paramètres choisis (Figure 12) :

- Sur 49 % de ces méthodes, aucun écart n'a été identifié, la validation était conforme aux paramètres définis
- Sur le reste des validations, des écarts avec complément de validation ont été identifiés. Le détail des méthodes revues est présenté sous le bilan

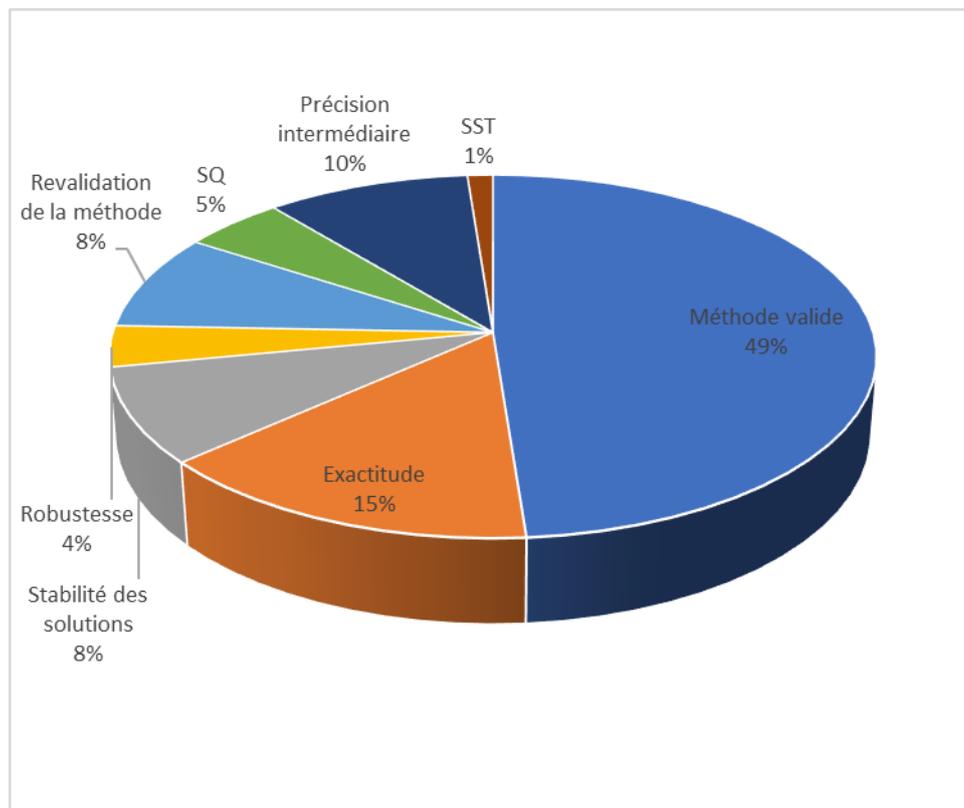


Figure 12 : Etat des lieux des écarts suite à la revue des validations des méthodes analytiques

Le détail de l'évaluation démontre que la moitié des écarts portent sur les tests d'exactitude et de précision intermédiaire. Viennent ensuite la stabilité des solutions et les robustesses (ces paramètres n'ont pas tous été considérés comme des écarts comme décrits précédemment). Les détails des plans d'actions mis en place en fonction des écarts relevés seront présentés ci-dessous.

Suite à l'état des lieux des écarts présentés ci-dessus, les différents plans d'action mis en place ont été les suivants :

a) *Seuil de Détection / Seuil de Quantification*

Les écarts relevés concernent le fait que la formule de calcul du signal / bruit a évolué dans la Ph. Eur.. D'autre part sur certaines validations, la répétabilité du SQ ou la vérification de ce paramètre n'ont pas été faits. Ce paramètre a été mis en plan d'action seulement quand d'autres paramètres de la méthode étaient en écart.

b) *Exactitude*

Durant l'évaluation et pour une grande partie des méthodes, les 3 points n'étaient pas présents. En effet, l'exactitude était soit réalisée sur une concentration répétée 6 fois et dans ce cas, il n'y avait ni les 9 points, ni les 3 répétitions, soit sur 3 concentrations mais avec une répétition.

Pour ce paramètre, le plan d'action a donc été d'effectuer un complément de validation en effectuant l'exactitude sur 3 x 3 répétitions conformément à l'ICH Q2 (R1) et l'ANVISA.

c) *Stabilité des solutions et robustesse*

Pour ce paramètre, un grand nombre de validation sur les méthodes évaluées ne le comprenait pas. Cependant, il a été considéré comme écart seulement pour les produits ayant pour destination le Brésil.

Ainsi le plan d'action a été soit d'effectuer une étude de robustesse complète, soit d'effectuer une stabilité des solutions.

d) *Fidélité : précision intermédiaire*

Les écarts sur ce paramètre provenaient du fait que par le passé une confusion récurrente a été faite entre la précision intermédiaire et la reproductibilité. Les écarts provenaient notamment du fait que la précision intermédiaire avait été effectuée dans deux laboratoires différents (contrôle qualité et développement analytique), avec 1 série de 6 répétitions dans chaque laboratoire, ce qui ne correspond ni à de la précision intermédiaire (laboratoire différents) ni à de la reproductibilité (pas assez de séries). L'autre écart relevé provenait du fait que parfois la précision intermédiaire n'avait pas été effectuée mais il y avait un transfert. Cependant, celui-ci n'était pas suffisant car le nombre de série et de répétition était insuffisant pour correspondre à une reproductibilité.

Le plan d'action a été d'effectuer un complément de validation de précision intermédiaire en accord avec les procédures actuelles : c'est-à-dire avec un plan d'expérience de 4 séries de 3 répétitions.

*e) Revalidation complète*

La revalidation complète a été conclue lorsque la validation de la méthode était très ancienne (plus de 15 ans) ou qu'il était impossible de retrouver les données brutes ou encore qu'un grand nombre de paramètres étaient en écart.

*f) System suitability test*

Sur ce paramètre seulement un écart a été relevé sur une méthode CPG HS (Chromatographie en Phase Gazeuse avec espace de tête) de solvants résiduels où il n'y avait pas de SST. Cela a été corrigé par un *change control* avec la mise en place d'une répétabilité sur chacun des solvants ainsi que la détermination du rapport signal / bruit.

*g) Linéarité / Spécificité / Qualification des appareils / Standards*

Sur la linéarité, aucun écart n'a été détecté vis-à-vis de l'ICH Q2 (R1) et de l'ANVISA. Cependant, des écarts documentaires ont été notifiés comme l'absence de graphique de la droite ou de graphiques des résidus. Ces données pouvant être récupérées par le biais des données brutes, elles n'ont pas été considérées comme des écarts importants.

Sur la spécificité, la qualification des appareils et les standards, aucun écart n'a été constaté.

Les plans d'actions décrits ci-dessus ont été priorisés en fonction de la criticité de l'écart et ont été incorporé dans le plan directeur de validation 2018 (Annexe 4).

La partie suivante portera sur la présentation d'un exemple de revue de validation sur une méthode analytique et la mise en place des plans d'action associés.

## 6. Revue de validation d'une méthode analytique

La méthodologie d'une revue de validation est présentée en prenant pour exemple le projet le plus en écart. La même méthodologie a été suivie pour l'évaluation des 51 méthodes présentées dans la partie bilan.

### a) Méthode analytique

La méthode étudiée porte sur la recherche des solvants résiduels dans le produit 4 par étalonnage externe.

Les solvants résiduels sont traités dans la partie 5.4. de la Ph. Eur. (29). La monographie prescrit les limites de teneurs en solvants qui peuvent subsister dans les SA. Ces limites s'appliquent que la SA présente ou non une monographie spécifique dans la pharmacopée. En effet, les solvants peuvent différer d'un fabricant à un autre. Tous les produits sont donc soumis à ce texte.

Les solvants sont importants pour la fabrication des SA mais ne présentent aucun intérêt pour la prise en charge thérapeutique et peuvent au contraire s'avérer dangereux. C'est pourquoi, leur absence en fin de synthèse doit être vérifiée.

La Ph. Eur. décrit plusieurs classes de solvant en fonction de leur dangerosité pour l'homme (Tableau 5) (29).

Tableau 5 : Classes de solvants selon la Ph. Eur.(29)

Classe 1	Solvant à éviter	- Carcinogènes humains connus ou fortement suspectés, dangereux pour l'environnement
Classe 2	Solvant dont l'utilisation est soumise à limitation	- Carcinogènes animaux non-génotoxiques ou éventuels agents causals d'autres effets toxiques irréversibles tels que la neurotoxicité ou la tératogénicité - Solvants présumés être à l'origine d'autres effets toxiques importants mais réversibles
Classe 3	Solvant à faible potentiel toxique	- Solvants à faible potentiel toxique pour l'homme. Aucune limite relative à l'exposition n'est exigée

### Description de la méthode étudiée (30) :

Les spécifications de la méthode étudiée sont décrites dans le tableau 6 et la méthode est présentée en annexe 5.

Tableau 6 : Spécifications pour les solvants utilisés

Solvant	Spécification méthode interne	Spécification Ph. Eur.	Classe
Méthanol	Pas plus de 1000 ppm	3000 ppm	2
Éthanol	Pas plus de 2000 ppm	5000 ppm	2
Toluène	Pas plus de 200 ppm	890 ppm	2
Chloroforme	Pas plus de 50 ppm	60ppm	2
Benzène	Pas plus de 2 ppm	2 ppm	1

La méthode utilisée est à minima plus restrictive que la Ph. Eur., la méthode interne est par conséquent en phase avec les spécifications réglementaires.

#### *b) Revue de la méthode analytique*

La partie suivante a pour objectif de présenter la méthodologie de la revue telle qu'elle a été suivie pour chaque méthode en prenant l'exemple de la méthode analytique présentée ci-dessus.

#### *i. Etape 1 : Vérification de l'accord entre la validation de la méthode et la méthode utilisée en routine*

La première étape est de vérifier l'accord entre la méthode validée et la méthode utilisée en routine. La méthode a été validée sur une colonne de 30 m (information récupérée dans le rapport de validation) et la méthode de routine indique dans la monographie une colonne supérieure à 30 m. Cependant, en regardant la monographie dans le détail il s'est avéré que la référence de la colonne correspondait à une colonne de 60 m : colonne DB1-1065 (phase : 100% diméthylpolysiloxane, 0,53mm x 60m x 5µm, voir partie réactifs de la méthode). Or, la Ph. Eur. autorise une variation de longueur de colonne de plus ou moins 70% (chapitre 2.2.46.) soit une variation de 9 à 51m. Il y a ici un premier écart constaté car la taille de la colonne à 60m ne rentre pas dans cet intervalle.

De plus, la concentration utilisée en chloroforme n'était pas celle de la spécification (100 ppm). La validation ayant été effectuée entre le SQ et 120% de la norme soit entre le SQ et 60 ppm, un second écart fut mis en évidence.

## *ii. Etape 2 : Vérification de la documentation*

La présence de la documentation a été vérifiée en deux temps :

- Une première validation en 2002 sur les solvants suivants : méthanol, éthanol, toluène et chloroforme
- Une seconde validation en 2013 sur le benzène uniquement

Les rapports et protocoles étaient bien présents pour le benzène, mais pour la validation de 2002, le protocole et les données brutes étaient indisponibles.

## *iii. Etape 3 : Vérification des paramètres de validation*

Les paramètres de validations explicités précédemment ont été expertisés grâce aux grilles de *screening* présentées en annexe 4 :

- **Spécificité** : Pas d'écart retrouvé
- **SD / SQ** : Pas de vérification du S/B et de répétabilité du SQ mis à part pour le benzène, mais comme vu précédemment ce ne fut pas considéré comme un écart puisque non demandé par l'ICH Q2(R1)
- **Linéarité** : Le rapport ne présente pas d'équation de la droite et la vérification du passage par 0 dans un intervalle de confiance à 95%. Ceci est considéré comme un écart documentaire mais ne nécessite pas d'action car en cas de demande réglementaire, les données brutes peuvent être récupérées.
- **Exactitude** : Pas d'écarts retrouvés pour le benzène. Pour les autres solvants : seulement 2 séries de 3 répétitions contre 3 séries de 3 répétitions recommandées par l'ICH Q2(R1). Ceci représente un écart.
- **Fidélité** : Pas d'écarts retrouvés sur la répétabilité et la précision intermédiaire
- **Robustesse** : Le rapport de validation ne permet pas de conclure quant à ces paramètres

## *iv. Etape 4 : Vérification du SST*

Une répétabilité a été effectuée sur le méthanol.

## *v. Etape 5 : Vérification de la qualification*

La CPG étant un appareil de routine au CQ, la cohérence température du four / température de qualification a été vérifiée. Aucun écart n'a été constaté : la température de la méthode

était entre 40 et 155°C pour le four et qualifiée entre 35 et 250 °C. Pour l'espace de tête, la qualification était entre 80 °C et 120 °C et la méthode à 80°C.

**vi. Etape 6 : Vérification des calculs**

Pour chaque méthode, une double vérification doit être effectuée sur les calculs. Ceci est le cas sur toutes les méthodes du site. Cette double vérification a été vérifiée dans le LIMS (*Laboratory Information Management System*) du laboratoire de CQ.

**vii. Etape 7 : Vérification des réactifs et des standards**

Les solvants résiduels, les réactifs et standards sont achetés à des fournisseurs accrédités par le service CPG du CQ. Ils sont donc qualifiés par le fournisseur. Les dates de vérification et de péremption sont aussi sous leur responsabilité.

**viii. Etape 8 : Vérification de la stabilité des solutions dans la monographie**

La cohérence entre les éléments retrouvés lors de la validation et la monographie a été contrôlée.

**ix. Etape 9 : Evaluation de l'impact des modifications de la méthode sur la validation**

À cette étape, une vérification doit être faite pour montrer que les modifications qui ont eu lieu sur la méthode n'ont pas eu d'impact sur la validation. Ceci a été étudié *via* les demandes de modification de la monographie. Les modifications ayant un impact potentiel sur la méthode sont :

- La suppression de la recherche de l'acétone et de l'isopropanol du test solvants résiduels : cette modification n'a pas d'impact sur la méthode puisque c'est une suppression.
- L'ajout de la recherche du benzène : cette modification a un impact puisque la recherche du benzène doit être validée. Mais ce changement a été contrôlé par le complément de validation concernant la recherche du benzène, en 2013.
- La modification des unités : passage de pourcentage en ppm sans impact.

### *c) Les plans d'actions identifiés*

Les écarts relevés ayant un impact sur la validité de la méthode et devant être rectifiés sont par conséquent les suivants :

- Le non accord entre la validation et la méthode de routine. La colonne utilisée en routine est de 60 m alors que la validation porte sur une méthode de 30 m et le témoin utilisé pour l'étalonnage externe est à 100 ppm pour le chloroforme et ne rentre pas dans la linéarité
- L'absence de protocole et de données brutes qui ne permet pas par conséquent d'apporter des preuves quant à la validation de la méthode
- L'exactitude qui ne rentre pas dans les prérequis demandés par l'ICH Q2(R1)

Les plans d'actions ont donc été pour le premier point d'ouvrir une déviation avec comme plan d'action couvrant également les points 2 et 3 : la revalidation complète de la méthode avec une colonne de 60 m et en prenant en compte la concentration du témoin par un élargissement de la linéarité : validation du SQ à 120 ppm (contrairement à l'ancienne validation qui allait du SQ à 60 ppm).

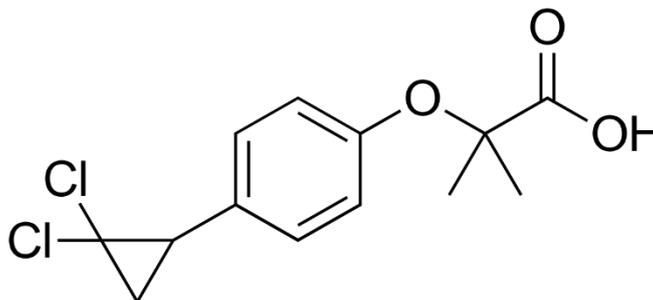
La vérification qu'aucune autre méthode de recherche des solvants résiduels effectuée sur site n'était concernée par cette anomalie de colonne (description d'une colonne supérieure à 30 m et utilisation d'une colonne de 60 m contre une validation sur une colonne de 30 m) a été nécessaire ainsi que de vérifier que les témoins de toutes les autres méthodes analytiques rentraient dans la linéarité des validations. Tout ceci afin de vérifier que l'écart était un écart ponctuel sur une seule méthode du site.

Ces 2 plans d'actions ainsi que la validation de méthode seront présentés dans la partie suivante.

## 7. Revalidation de la méthode du produit 4 et ouverture d'une déviation

Le premier plan d'action a été la revalidation de la méthode pour le produit 4 (Figure 13) qui est produit sur le site étudié.

Le but de cette étude fut de valider la méthode d'analyse pour la quantification des solvants résiduels (éthanol, méthanol, chloroforme et toluène) par CPG à espace de tête avec un détecteur à ionisation de flamme (FID) suite à la revue présentée ci-dessus.



Formule brute	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Masse molaire	289,2 g/mol

Figure 13 : Structure chimique du produit 4

### d) Paramètres étudiés et critères d'acceptation

Les paramètres étudiés et les critères d'acceptations utilisés pour la validation de la méthode sont détaillés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Critères d'acceptation utilisés pour la validation de la méthode

Paramètres	Critères d'acceptation
Spécificité	<ul style="list-style-type: none"><li>- Tous les pics sont séparés entre eux</li><li>- La résolution entre 2 impuretés n'est pas inférieure à 1</li><li>- La résolution entre le pic de DMSO et le pic de solvant à rechercher le plus proche n'est pas inférieure à 1,5</li></ul>
Seuil de détection et de quantification	<ul style="list-style-type: none"><li>- Le CV (%) des aires sur les six injections de la solution au SQ de travail doit être inférieur ou égal à 25%</li><li>- Le rapport S / B doit être supérieur ou égal à 10 pour chacune des 6 injections</li><li>- Le rapport S / B sur l'injection de la solution au seuil de détection doit être supérieur ou égal à 3</li></ul>
Linéarité	<ul style="list-style-type: none"><li>- Le coefficient de corrélation r de la courbe doit être supérieur ou égal à 0,997</li><li>- Le zéro doit être compris dans l'intervalle de confiance à 95% ou à défaut ne doit pas être supérieur à 10% de la réponse à la spécification de l'impureté</li></ul>

	- Le graphe des résidus doit montrer une dispersion aléatoire des points autour de la ligne du zéro
Exactitude	- Le recouvrement moyen à chaque concentration doit être compris entre 80% et 120%
Effet matrice	- La différence relative des pentes doit être inférieure à 10%
Fidélité Répétabilité du système, répétabilité, précision intermédiaire	- Le CV est déterminé en fonction de la teneur de l'impureté dans le produit : <ul style="list-style-type: none"> <li>- SQ à 5xSQ : inférieur à 25,0%</li> <li>- 5xSQ à &lt; 20xSQ : inférieur à 20,0%</li> <li>- ≥ 20xSQ : inférieur à 15,0%</li> </ul>
Reproductibilité	<ul style="list-style-type: none"> <li>- SQ à 5xSQ : inférieur à 30.0%</li> <li>- 5xSQ à &lt;20xSQ : inférieur à 20.0%</li> <li>- ≥ 20xSQ : inférieur à 15.0%</li> </ul>
Stabilité des solutions	- Le recouvrement pour les solvants au temps T par rapport à T0 est compris entre 90% et 110%
Robustesse	- Le recouvrement des teneurs retrouvées sur les différents paramètres par rapport à la teneur des conditions initiales doit être compris entre 80 et 120% - La résolution entre le pic de DMSO et le pic à rechercher le plus proche n'est pas inférieure à 1,5

#### e) Conditions opératoires

La validation a été réalisée avec une CPG couplée à un système d'injection gazeuse à espace de tête (HS) piloté par le logiciel EMPOWER SR-2 sous Caducée solution centralisée.

Les conditions opératoires étaient les suivantes :

- Colonne de type DB1-1065 (phase : 100% diméthylpolysiloxane, 0,53mm x 60m x 5µm)
- Température de l'injecteur à 130°C et celle du détecteur à 250°C
- Température initiale de la colonne de 40°C avec un gradient de température de 5°C par minute jusqu'à 155°C
- Pression d'entrée de colonne de 18 psi (méthode en pression constante)
- Température de l'espace de tête à 80°C et température de la ligne de transfert à 100°C

Deux lots de production du produit 4 ont été utilisés lors de la validation.

Les solvants standards ont été utilisés aux qualités suivantes : éthanol (99,5%), méthanol (99,9%), chloroforme (99,9%) et toluène (99,85%).

Les solutions « blanc », témoin et test ont été préparées en accord avec la monographie.

f) *Validation de la méthode*

i. *Spécificité*

Un « blanc » de DMSO ainsi que les solvants ont été injectés séparément : méthanol (1000 ppm), éthanol (2000ppm), toluène (200ppm), chloroforme (100ppm), un mélange de solvants à la spécification et la solution témoin T2 décrite dans la méthode d'analyse (méthanol (1000ppm), éthanol (1000ppm), toluène (200 ppm) et chloroforme (100 ppm)). Enfin un lot de produit 4 dopé en solvants avec la solution T2 a été injecté. Le tableau 8 présente les résultats de la résolution entre les différents pics présents dans le chromatogramme de la solution témoin T2. Les chromatogrammes sont présentés dans l'annexe 7.

*Tableau 8 : Résolution entre les pics pour la solution T2*

Solvants	Temps de rétention (min)	Résolution
Méthanol	6,44	NA
Ethanol	8,45	18
Chloroforme	15,93	51,80
Toluène	24,24	49,67
DMSO	25,65	5,31

Tous les pics étaient séparés entre eux et dans le blanc aucun pic n'interférait avec le solvant à quantifier.

La résolution entre le pic de DMSO et le pic de solvant à rechercher le plus proche n'était pas inférieure à 1,5. La résolution entre 2 impuretés n'était pas inférieure à 1.

La méthode est par conséquent spécifique.

ii. *Seuils de détection et de quantification*

*Détermination des SD et SQ*

Pour chaque solvant un « blanc » de DMSO et une solution diluée à une concentration connue ( $1/10^{\text{ème}}$  du témoin décrit dans la monographie) ont été injectés.

Les SD et SQ expérimentaux ont été calculés selon la formule du S / B décrite dans la partie I.2.b) du présent document (Tableau 9, Annexe 8).

Tableau 9 : Seuils de détection et de quantification calculés et proposés

Solvants	Seuils calculés		Seuils proposés	
	SD (ppm)	SQ (ppm)	SD (ppm)	SQ (ppm)
Ethanol	0,82	2,74	10	20
Méthanol	0,78	2,63	5	10
Chloroforme	2,60	8,66	5	15
Toluène	0,35	1,17	1	2

Les seuils ont été volontairement choisis au-dessus des seuils théoriques (Tableau 9). En effet, les méthodes analytiques sont validées dans des conditions idéales (avec des standards de qualité connue), les SD et SQ doivent donc être adaptés pour l'utilisation en routine avec des variations pouvant avoir lieu avec le changement des techniciens, des appareils, des jours... Il est conseillé d'utiliser un SQ au maximum à 50% de la spécification.

#### Vérification des SD et SQ

Les SD et SQ proposés ont ensuite été vérifiés par l'injection de 6 solutions à la limite de quantification et une injection à la limite de détection et le calcul des rapports S / B, les CV sur les injections SQ et la moyenne des S / B (Tableau 10 et annexe 9).

Tableau 10 : Coefficients de variation et moyennes obtenues sur les 6 injections au SQ

Solvants	CV Aire SQ	CV S/N	Moyenne S/B
Ethanol	2,2	2,1	43,85
Méthanol	2,3	2,6	40,67
Chloroforme	3,5	2,2	14,95
Toluène	4,4	1,8	13,87

Le CV est inférieur ou égal à 25% pour le SQ des différents solvants. Le rapport S / B sur l'injection de la solution au SD de chaque solvant est supérieur ou égal à 3. Le rapport S / B est supérieur ou égal à 10 pour chacune des 6 injections du SQ.

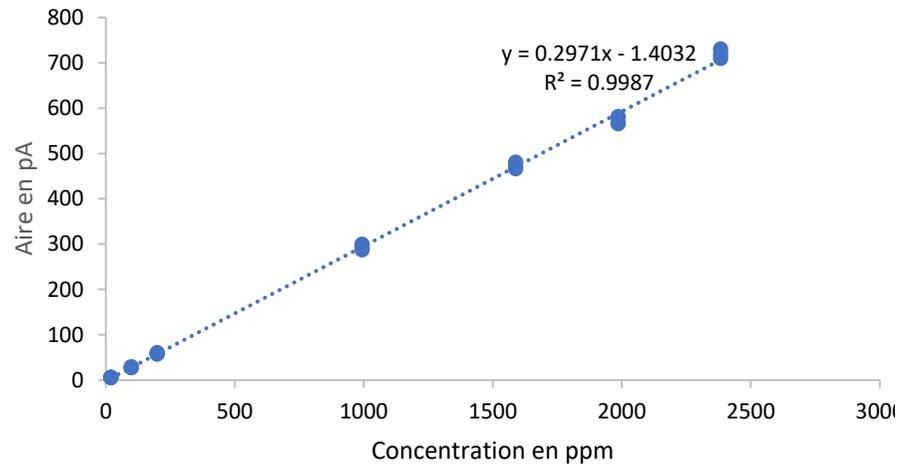
Les seuils de quantification et de détection sont par conséquent vérifiés et peuvent être utilisés en routine.

### *iii. Linéarité*

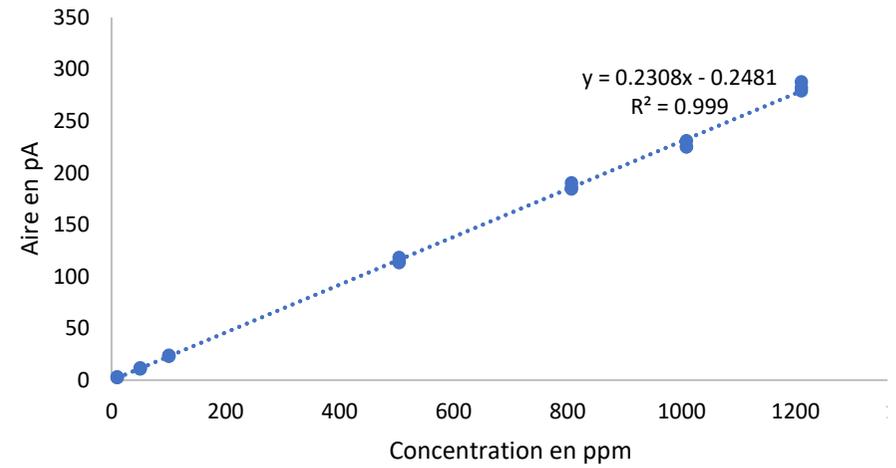
La linéarité a été étudiée dans la gamme allant du SQ de chaque solvant jusqu'à 120% de la spécification. 7 solutions contenant le produit et les différents solvants ont été injectées 3 fois.

Les droites obtenues sur la linéarité et les résultats sont présentés dans la figure 14 et l'annexe 11.

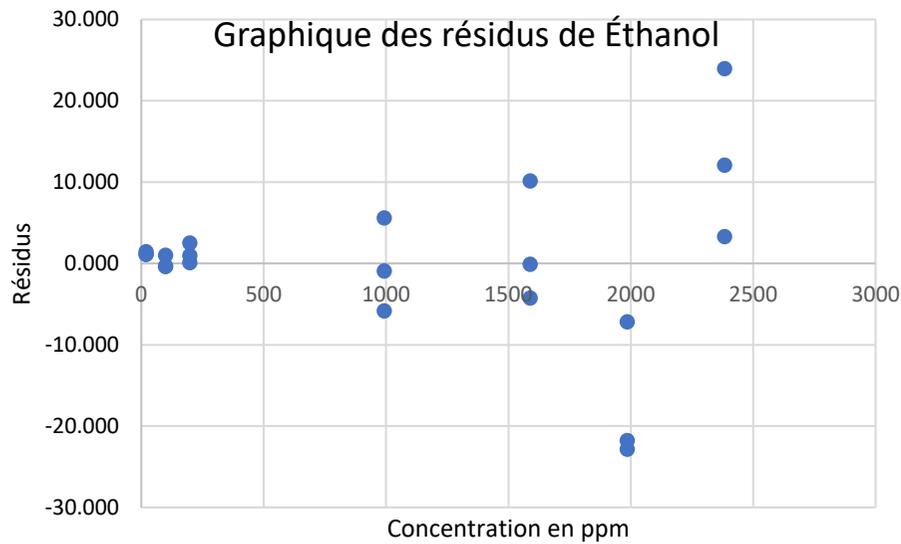
### Gamme d'étalonnage de l'Éthanol



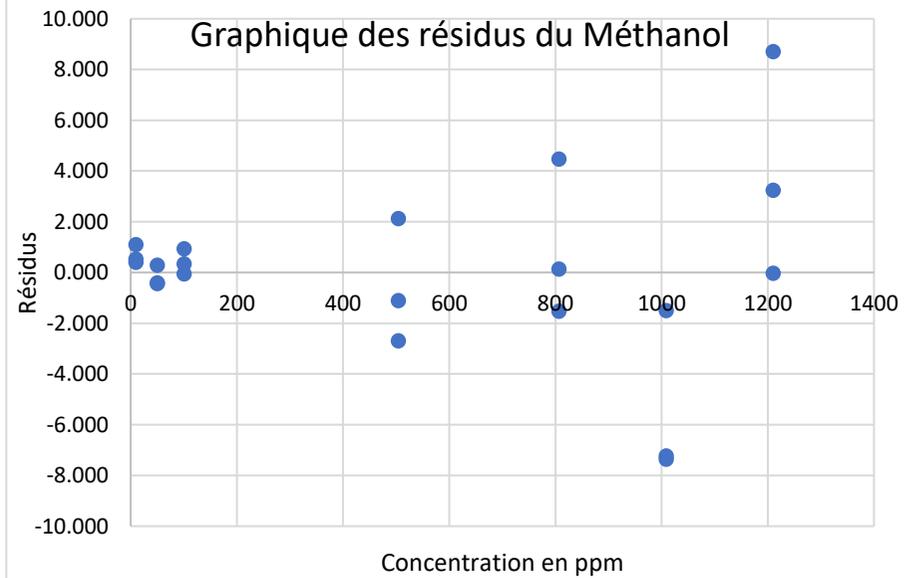
### Gamme d'étalonnage du Méthanol



### Graphique des résidus de Éthanol



### Graphique des résidus du Méthanol



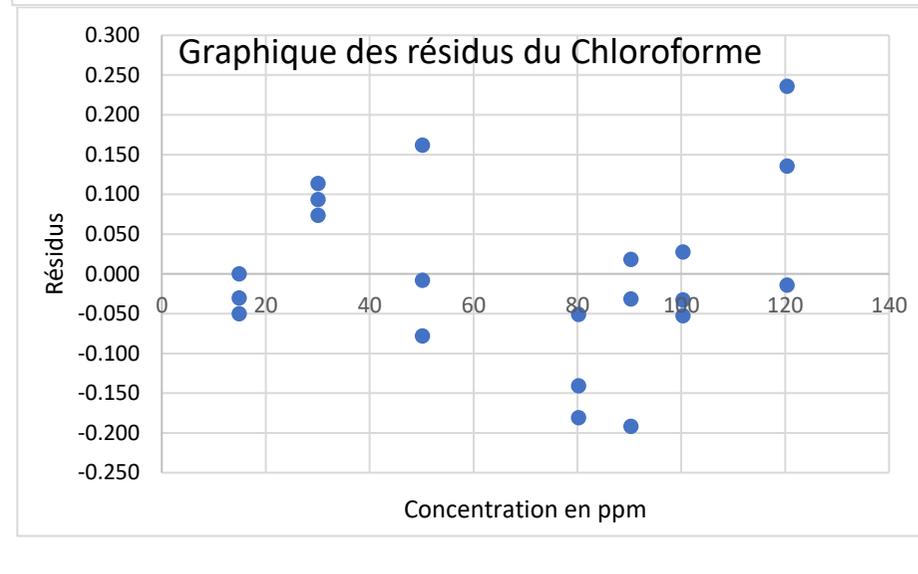
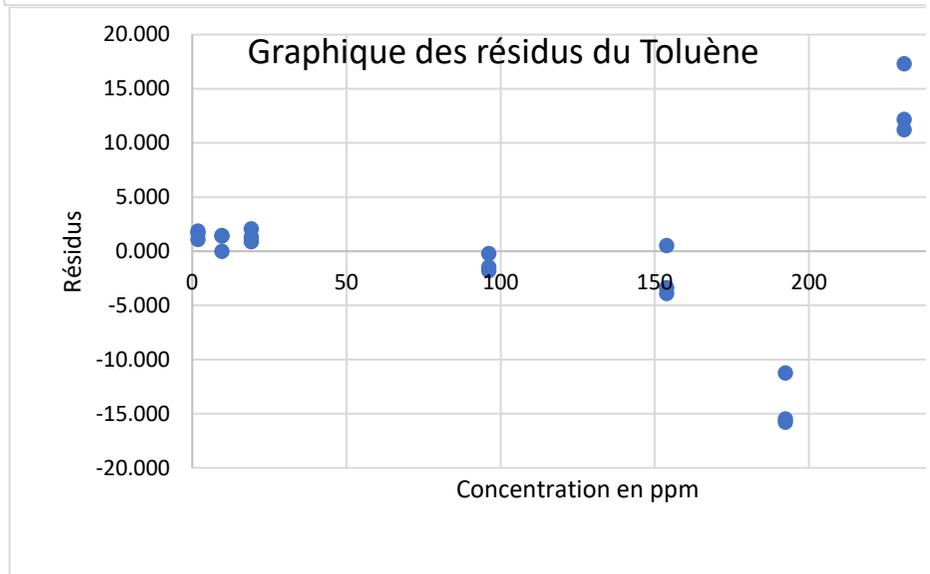
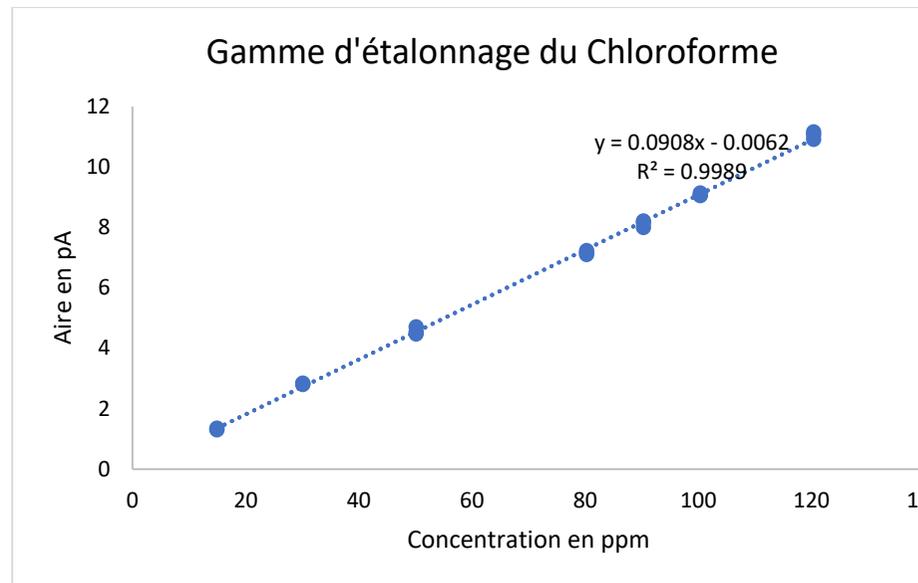
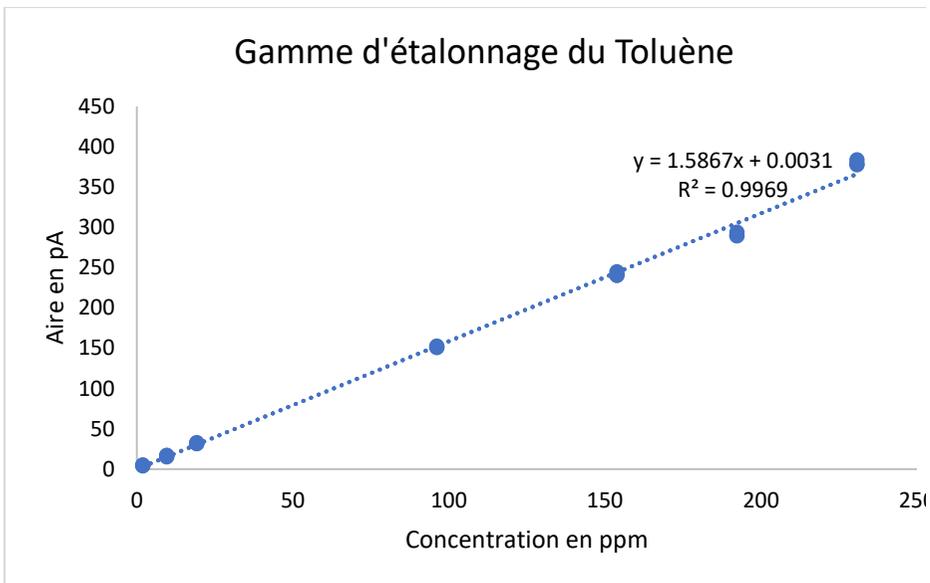


Figure 14 : Droites et diagrammes des résidus obtenus pour le test de linéarité

Tableau 11 : Résultats obtenus pour le test de linéarité

Solvants	Equation de la droite	Coefficient de régression	Intervalle de confiance
Ethanol	$y = 0,2971x - 1,4032$	0,999	[5,723 à -8,53]
Méthanol	$y = 0,2308x - 0,2481$	0,999	[2,201 à -2,697]
Chloroforme	$y = 0,0908x - 0,0062$	0,999	[0,104 à -0,116]
Toluène	$y = 1,5867x + 0,0031$	0,998	[5,644 à -5,638]

Pour chaque solvant, le coefficient de régression était  $\geq 0,997$ . La valeur de l'ordonnée à l'origine était comprise dans l'intervalle de confiance. Le graphique des résidus montrait une dispersion aléatoire des points autour de la ligne du zéro.

En conclusion la linéarité a été démontrée pour les différents solvants étudiés.

#### iv. Exactitude

3 solutions indépendantes d'un lot de production dopées à 80%, 100% et 120% de chaque spécification des solvants spécifiés sont préparées.

La teneur en chacun des solvants dans la solution à analyser a été déterminée par étalonnage externe selon la formule énoncée dans la partie I.2.b) permettant ensuite de calculer les exactitudes associées (Tableau 12 et annexe 12).

Tableau 12 : Etude de l'exactitude de la méthode pour les différents solvants étudiés

Solvants	Recouvrement moyen à 80%	Recouvrement moyen à 100%	Recouvrement moyen à 120%
Ethanol	106 %	103 %	108 %
Méthanol	112 %	109 %	114 %
Chloroforme	105 %	100 %	104 %
Toluène	72 %	69 %	71 %

Le recouvrement moyen de chaque solvant pour chaque concentration est compris entre 80% et 120%. Pour le Toluène l'écart peut provenir d'un effet matrice, ce point sera développé dans la partie suivante.

La méthode est par conséquent exacte sauf pour le Toluène.

## v. Effet matrice

Deux gammes d'au moins 5 concentrations différentes allant du SQ de travail à 120% de la spécification ont été réalisées avec les solvants seuls et avec les solvants dans la matrice « produit 4 ». La différence relative des deux pentes a été alors calculée (Tableau 13 et annexe 13).

Tableau 13 : Etude de l'effet matrice

Solvants	Pente en matrice	Pente hors matrice	Différence relative
Ethanol	0,3037	0,2971	2,2 %
Méthanol	0,2487	0,2308	7,2 %
Chloroforme	0,0829	0,0908	- 9,5 %
Toluène	1,5867	1,1308	28,73 %

L'effet matrice était inférieur à 10% pour l'éthanol, le méthanol et le chloroforme. La quantification par étalonnage externe est donc acceptable.

Cependant, la différence des pentes était supérieure à 10% pour le toluène et n'était par conséquent pas négligeable : environ 30% ce qui est cohérent avec les résultats obtenus pour l'exactitude. Des spécifications significativement inférieures à la spécification ICH en routine ont dû être prises afin de prendre en compte cet effet matrice. Ce fut le cas dès la validation de 2002 en abaissant la spécification de 890 ppm (Ph. Eur.) à 200ppm.

Une autre solution aurait pu être de changer le solvant de dissolution de la méthode ou d'utiliser un étalon interne avec une validation complète de la nouvelle méthode alors développée.

## vi. Fidélité

### **Répétabilité de l'injection**

La répétabilité du système a été démontrée en injectant la solution témoin de quantification 6 fois (Tableau 14).

Tableau 14 : Etude de la répétabilité de l'injection

	Aire (Ethanol)	Aire (Méthanol)	Aire (Chloroforme)	Aire (Toluène)
Injection 1	284,01	213,64	7,19	282,59
Injection 2	278,78	212,41	7,22	281,05
Injection 3	279,97	212,72	7,20	280,44
Injection 4	278,68	212,24	7,16	279,90
Injection 5	278,99	213,63	7,11	280,29
Injection 6	279,06	213,23	7,13	284,51
<b>Moyenne</b>	280,08	212,98	7,17	281,46
<b>Critères d'acceptation</b>	< 15%	< 15%	< 15%	< 15%
<b>CV (%)</b>	<b>0,7</b>	<b>0,3</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>

#### Répétabilité de la méthode

6 préparations indépendantes de la solution à analyser ont été réalisées. La teneur en solvant dans la solution à analyser a été déterminée par étalonnage externe. Les critères d'acceptation sont les mêmes que ceux présentés dans la partie précédente « répétabilité de l'injection ». Le CV des teneurs sur les 6 injections pour l'éthanol est reporté dans le tableau 15.

Tableau 15. Etude de la répétabilité

	Teneur en éthanol (ppm)	Teneur en méthanol (ppm)	Teneur en chloroforme (ppm)	Teneur en toluène (ppm)
Préparation 1	745,34	524,70	43,39	77,01
Préparation 2	762,53	535,65	45,97	79,32
Préparation 3	763,68	538,50	46,64	80,22
Préparation 4	750,58	538,46	45,24	77,76
Préparation 5	788,86	563,90	47,58	83,81
Préparation 6	789,23	566,04	49,72	83,61
<b>Moyenne</b>	766,71	542,88	46,42	80,29
<b>Critères d'acceptation</b>	< 15%	< 15%	< 15%	< 15%
<b>CV (%)</b>	<b>2,4</b>	<b>3,3</b>	<b>4,6</b>	<b>3,6</b>

### Précision intermédiaire

4 séries de 3 solutions indépendantes ont été préparées selon la méthode décrite dans la monographie par 2 analystes sur 2 jours différents par analyste. Les teneurs obtenues ont été regroupées dans le tableau 16.

Tableau 16 : Etude de la précision intermédiaire

		Teneur Ethanol (ppm)	Teneur Méthanol (ppm)	Teneur Chloroforme (ppm)	Teneur Toluène (ppm)
Analyste 1	Préparation 1	745,34	524,70	43,39	77,01
	Préparation 2	762,53	535,65	45,97	79,32
	Préparation 3	763,6	538,50	46,64	80,22
	Préparation 4	797,05	580,23	53,35	88,69
	Préparation 5	759,043	542,52	48,84	81,40
	Préparation 6	801,57	585,24	52,81	88,54
Analyste 2	Préparation 7	795,92	556,36	47,20	87,32
	Préparation 8	803,56	560,39	46,92	87,70
	Préparation 9	800,48	558,05	48,20	87,56
	Préparation 10	816,93	573,45	47,12	84,03
	Préparation 11	765,28	540,98	44,87	81,54
	Préparation 12	805,44	565,63	46,25	84,03
Moyenne		784,74	555,14	47,63	83,94
Critères d'acceptation		< 15%	< 15%	< 15%	<15%
CV (%)		3,0	3,4	6,1	4,8

### Reproductibilité de la méthode

6 séries de 3 déterminations indépendantes (3 séries par laboratoire) ont été réalisées par 2 analystes sur 2 jours différents par analystes. Une seule préparation de témoin par série a été effectuée. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 17.

Tableau 17. Etude de la reproductibilité

			Teneur éthanol (ppm)	Teneur méthanol (ppm)	Teneur chloroforme (ppm)	Teneur toluène (ppm)
Labo 1	Analyste 1 jour 1	Série 1	745,34	524,70	43,39	77,01
			762,53	535,65	45,97	79,32
			763,68	538,50	46,64	80,22
	Analyste 1 jour 2	Série 2	797,05	580,23	53,35	88,69
			759,043	542,52	48,84	81,40
			801,57	585,24	52,81	88,54
	Analyste 2 jour 3	Série 3	795,92	556,36	47,20	87,32
			803,56	560,39	46,92	87,70
			800,48	558,05	48,20	87,56
Labo 2	Analyste 3 jour 4	Série 1	797,02	532,57	42,85	82,48
			806,10	547,33	44,48	84,16
			790,77	532,24	43,72	81,69
	Analyste 3 jour 5	Série 2	766,09	527,15	42,44	80,82
			769,92	530,73	40,30	80,93
			778,30	535,40	43,99	81,62
	Analyste 4 jour 5	Série 3	792,61	540,59	44,91	83,55
			801,68	552,42	46,46	84,77
			800,18	548,73	45,17	84,33
<b>Moyenne</b>			785,10	546,04	45,98	83,45
<b>Ecart-type</b>			19,02	17,07	3,36	3,43
<b>Critères d'acceptation</b>			< 15%	< 15%	< 15%	< 15%
<b>CV (en %)</b>			2	3	7	4

Les CV obtenus pour la répétabilité de l'injection, la répétabilité, la précision intermédiaire et la reproductibilité de la méthode entraînent dans les critères d'acceptation. La méthode était donc reproductible.

**vii. Stabilité de la solution à analyser**

La stabilité des solutions a été étudiée à T0 puis sur 24h, 48h et 96h. Les résultats sont présentés dans le tableau 18 et l'annexe 14.

*Tableau 18 : Etude de la stabilité des solutions*

	Recouvrement à 24h	Recouvrement à 48h	Recouvrement à 96h
Ethanol	103%	110%	105%
Méthanol	102%	108%	104%
Chloroforme	103%	109%	104%
Toluène	98%	109%	102%

Le recouvrement pour les solvants aux différents temps d'analyse par rapport à T0 était compris entre 90% et 110%. Les solutions sont stables à *minima* pendant 96h.

viii. Etude de robustesse

Les essais ont été déclinés en 2 parties : les paramètres CPG puis les paramètres de l'espace de tête (Tableaux 19 et 20).

Tableau 19 : Etude de robustesse des paramètres CPG

	Paramètres CPG					
	Recouvrements pour les paramètres CPG					
	Température four 30°C	Température four 50°C	Rampe de température four 4°C/min	Rampe de température four 6°C/min	Pression tête de colonne 16,2 psis	Pression tête de colonne 19,8 psis
Ethanol	102%	102%	101%	99%	88%	117%
Méthanol	103%	103%	102%	99%	88%	117%
Chloroforme	103%	103%	102%	99%	90%	116%
Toluène	103%	103%	101%	109%	88%	117%

Tableau 20 : Etude de robustesse des paramètres de l'espace de tête

	Paramètres de l'espace de tête			
	Recouvrements			
	Température 70°C	Température 90°C	Temps d'agitation 5min	Temps d'agitation 15 min
Ethanol	106%	103%	105	103
Méthanol	108%	104%	108	105
Chloroforme	109%	103%	108	103
Toluène	109%	103%	109	104

L'équivalence entre la méthode à pression constante et celle à débit constant a été étudiée afin de pouvoir passer en débit constant sur les nouveaux appareils (Tableau 21). En effet, les anciens appareillages ne permettaient qu'une pression constante à l'entrée des colonnes, mais dorénavant des CPG existent avec ajustement automatiquement de la pression afin d'obtenir des débits constants. L'avantage étant que les temps de rétention deviennent plus reproductibles d'une analyse sur l'autre.

Tableau 21 : Etude de robustesse des autres paramètres

	Autres paramètres étudiés		
	Recouvrements		
	Débit constant (2mL.min <sup>-1</sup> )	Débit constant (3mL.min <sup>-1</sup> )	Lot de colonne
Ethanol	86%	95%	105%
Méthanol	81%	95%	106%
Chloroforme	86%	94%	117%
Toluène	81%	93%	109%

La résolution entre le pic de DMSO et le pic de solvant à rechercher le plus proche n'a pas été inférieure à 1,5 et le recouvrement a été compris entre 80% et 120% pour chaque paramètre étudié. La méthode est par conséquent robuste vis-à-vis des paramètres décrits précédemment. De plus, la méthode est équivalente en débit constant à 2mL.min<sup>-1</sup> et 3mL.min<sup>-1</sup>.

#### *g) Bilan sur la validation*

La validation de méthode a montré que :

- La méthode était spécifique
- La méthode était sensible : les SQ étaient respectivement de 20, 10, 15 et 2 ppm pour l'éthanol, le méthanol, le chloroforme et le toluène et les SD de 10, 5, 5 et 1 ppm
- La linéarité a été démontrée entre 20 et 2400 ppm pour l'éthanol, 10 et 1200 ppm pour le méthanol, 15 et 120 ppm pour le chloroforme et 2 à 240 ppm pour le toluène
- La méthode était précise, répétable et reproductible dans le domaine étudié
- La méthode était robuste vis-à-vis de :
  - La température initiale de la colonne
  - Du débit de l'hélium
  - La vitesse du gradient
  - La pression
  - Le temps d'agitation de l'espace de tête
  - La température de l'espace de tête
  - Du lot de colonne
  - Des résultats comparables entre les analyses en pression constante et débit constant
  - La stabilité de la solution démontrée sur 96h

La méthode analytique est validée pour l'analyse des solvants résiduels du produit 4 par étalonnage externe sur les critères testés.

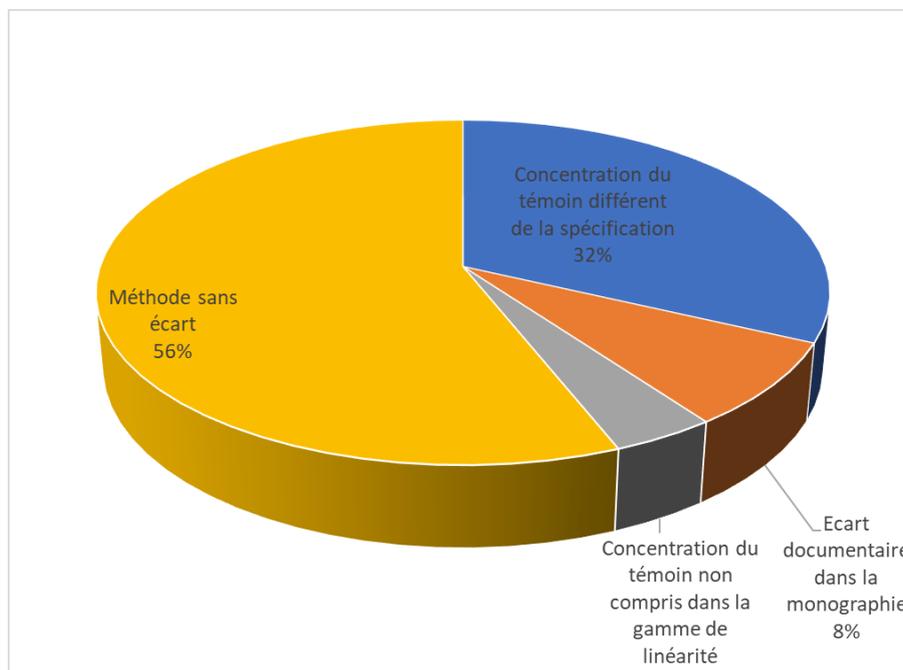
Cet exemple démontre qu'outre le fait d'avoir un système de validation efficace, la présence d'un système documentaire adéquat est également très importante. En effet, la perte de documentation sur la validation analytique peut totalement remettre en cause la validation en tant que tel. C'est pourquoi, la mise en place d'outils informatisés tels que le *sharepoint* revêtent toute leur importance

#### *h) Etude des colonnes des autres méthodes portant sur les solvants résiduels*

Ainsi, la première action mise en place consistait en la validation de la méthode avec une colonne de 60 m et en prenant en compte la concentration du témoin de chloroforme.

De plus, suite à la mise en exergue de cette anomalie, les autres méthodes ont dû être vérifiées pour s'assurer qu'elles ne comprenaient pas elles aussi ce même écart. Les points qui ont été contrôlés sont (Figure 15) :

- Chaque solvant témoin compris dans la gamme de linéarité
- Pas d'écart en termes d'écriture « colonne de plus de 30 m » pour désigner une colonne de 60 m (pour éviter les confusions)
- Correspondance entre la colonne décrite dans la partie « Réactifs » de la monographie et celle du texte



*Figure 15 : Etude des colonnes et des concentrations des témoins des méthodes de détermination des solvants résiduels*

Cette étude a permis de montrer que :

- Aucune autre méthode que celle du produit 4 n'est utilisée en routine sur une colonne en inadéquation avec celle utilisée pour la validation. De plus, cela a été corrigé dans la nouvelle validation en l'effectuant avec une colonne de 60 m.
- Deux monographies présentent des imprécisions sur la taille des colonnes à utiliser « colonne d'une longueur minimale de 30m ». Ces monographies feront l'objet d'une demande de modification pour corriger ce point.
- Un écart sur les témoins au niveau du test des solvants résiduels d'un produit a été mis en évidence et fera l'objet d'une investigation.
- Certains témoins présentent une valeur différente de la spécification mais sans impact sur la validation de la méthode.

## Conclusion

La validation des méthodes analytiques est un élément essentiel, vivant, mais également un requis réglementaire. Ces validations s'inscrivent dans un contexte plus global d'assurance qualité et contribuent à assurer la qualité des produits de l'industrie pharmaceutique. Elles sont aujourd'hui un élément bien compris, à l'appréciation de l'industriel, dans leur contexte réglementaire et constituant la base des méthodes analytiques.

Outre cet aspect de validation, un système de gestion efficace de la documentation les supportant est également cruciale. Ceci s'est concrétisé par la mise en place sur le site étudié d'un outil de traçabilité et d'un serveur de mutualisation des protocoles et rapports de façon informatisée entre les différents services du site.

Cependant, les technologies et les réglementations évoluent, ce qui amène les industriels à aller dans un niveau plus profond dans la gestion des validations analytiques avec la revue périodique de ces validations.

En effet, elle va permettre de vérifier en continu l'adéquation avec la réglementation et de mettre en place des plans d'actions si nécessaire (Allant du complément de validation à la revalidation complète de la méthode). Ainsi l'industriel n'aura plus la visibilité seulement à la validation initiale mais également sur du plus long terme.

La méthodologie de mise en place de la revue est à son appréciation, la réglementation ne décrivant actuellement pas ces évaluations. De nombreux indicateurs peuvent être utilisés comme la revue des OOS, des demandes de modification, des SST... L'élément essentiel étant d'être en phase avec la réglementation (soit ICH Q2(R1) et les pharmacopées). Les plans d'actions peuvent ensuite être planifiés et intégrés dans le plan directeur de validation.

Le système mis en place sur le site étudié a démontré son importance de façon conséquente par la mise en place d'actions sur plus de la moitié des méthodes étudiées (soit 26 méthodes).

Les outils mettant en place un système de revue des validations ont été présentés pour le produit 4 sachant que des modifications seront nécessaire en fonction de l'application visée.

En effet, ce document est accès sur la qualité et présente par conséquent la revue qualité des validations mais le côté réglementaire n'est pas à négliger, d'autant que les validations font partie du dossier d'autorisation de mise sur le marché. C'est pourquoi inclure la vérification des dossiers réglementaires dans les revues est également un critère à prendre en considération. (Vérification de l'adéquation entre les dossiers réglementaires et les rapports de validation du fait de l'évolution des méthodes).

Enfin, la réglementation dans le domaine pharmaceutique est en perpétuelle mutation pour répondre au mieux aux besoins du marché tout en garantissant un produit sûr pour le patient. Dans ce contexte, la méthodologie de revue n'est pas quelque chose de figée mais qui s'adapte aux nouvelles évolutions.

## Table des Annexes

Annexe 1 : Revue des OOS de l'année 2017 .....	89
Annexe 2 : Revue des demandes de modification 2017 .....	91
Annexe 3 : Grilles de screening analytiques .....	95
Annexe 4 : Plans d'actions incorporés dans le plan directeur de validation 2018 .....	103
Annexe 5 : Méthode étudiée pour la revue de validation et plans d'actions associés .....	106
Annexe 6 : Exemple de revue de validation .....	108
Annexe 7 : Chromatogrammes obtenus pour la vérification du paramètre de spécificité de la validation de la méthode des solvants résiduels du produit 4 .....	111
Annexe 8 : Calcul des concentrations pour la détermination des SD/SQ de la validation de la méthode des solvants résiduels .....	113
Annexe 9 : Calcul des SD et SQ théoriques de la validation de la méthode des solvants résiduels..	114
Annexe 10 : Vérification des SQ des différents solvants pour la validation de la méthode des solvants résiduels du produit 4 .....	116
Annexe 11 : Etude de la linéarité de la méthode de dosage des solvants résiduels .....	119
Annexe 12 : Exactitude de la méthode des solvants résiduels .....	127
Annexe 13 : Etude de l'effet matrice de la méthode des solvants résiduels .....	129
Annexe 14 : Etude de la stabilité des solutions de la méthode des solvants résiduels du produit 4 ..	137
Annexe 15 : Etude de la robustesse pour la méthode des solvants résiduels du produit 4 .....	138

Annexe 1 : Revue des OOS de l'année 2017

Légende :

	Méthode pharmacopée
	Méthode validée

Substance active	Origine 5M	Cause racine	Plan d'action
<b>Produit 1</b>	Matière	Titre Standard	Spécification d'alerte KF sur standard
<b>Produit 2</b>	Matériel	Piston grippé (couleur ponctuelle d'un rack dans l'unité de titration)	NA car ponctuel
<b>Produit 3</b>	Main-d'œuvre	Erreur sur le volume d'acide camphosulfonique	NA
<b>Produit 4</b>	Main-d'œuvre	Oubli dilution	Resensibilisation
		Erreur d'appréciation du virage colorimétrique (détermination visuelle)	Technicien resensibilisé
		Oubli de dilution solution S	Resensibilisation
	Matériel	Contamination de la verrerie	Examen de la verrerie
<b>Produit 5</b>	Main-d'œuvre	Erreur de dilution	NA
<b>Produit 6</b>	Main-d'œuvre	Perte produit lors de la mise en solution	Formation technicien
	Milieu	Flacon de réactif vide	Modification de la <i>check-list</i> pour ajout « vérification du niveau de la bouteille de réactif titrant avant analyse »
		Pollution du <i>vial</i>	Repréparation du <i>vial</i>
	Matériel	Réactif dégradé (acide acétique)	NA
<b>Produit 7</b>	Matériel	Stabilisation de l'équipement insuffisant	NA
		Bulle dans la burette	NA
		Réactif dégradé (acide acétique)	NA
	Main-d'œuvre	Problème de mise en solution	NA

<b>Produit 8</b>	Matériel	Colonne	Limitation du nombre d'injection par colonne
	Main-d'œuvre	Délai entre préparation d'échantillon et analyse	Précision à ajouter dans la monographie
		Manque de rinçage	Resensibilisation
	Matière	Flacon quasiment vide de l'échantillon d'analyse	Précision à ajouter dans la monographie
<b>Produit 9</b>	Main-d'oeuvre	Dissolution incomplète	NA

## Annexe 2 : Revue des demandes de modification 2017

Légende :

	Changements concernant les méthodes validées
--	--

Produit	Modification des monographies en 2017	Plan d'action associé	Impact validité des méthodes
<b>1</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>2</b>	Mise en conformité de l'aspect en solution avec la Pharmacopée Chinoise 2015 Ajout de précisions sur la mise en conformité de l'aspect en solution avec la Pharmacopée Chinoise 2015	NA	Pas d'impact car méthode pharmacopée
	Ajout des codes X et Y Ajout fiche de spécification pour les codes X et Y	NA	Pas d'impact
	Création de la monographie dans GEODE à partir de la Pharmacopée Japonaise JP XVII code X	NA	Pas d'impact, prise en main effectuée
	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>3</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
	Solvants résiduels : précision apportée sur la mise en œuvre du calcul de la résolution	NA	Pas d'impact car seulement précisions sur le logiciel
	Ajout du test de particules étrangères Solvants résiduels : précision apportée sur la mise en œuvre du calcul de la résolution	NA	Méthode interne à titre informatif, pas d'impact
<b>4</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>5</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>6</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>7</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>8</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>9</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>10</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>11</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>12</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>13</b>	Pas de modification en 2017	NA	NA
<b>14</b>	Coloration par spectrophotométrie d'absorption dans l'UV : ajout de précision sur le geste opératoire	NA	Pas d'impact car seulement une précision sur le rinçage de la cuve
	Pas de modification en 2017	NA	NA

15	HPLC : correction limite d'exclusion	NA	Précision apportée à la limite d'exclusion qui passe de 0,1 à 0,10 : pas d'impact sur la méthode
	Pas de modification en 2017	NA	NA
16	Rectification de la séquence type décrite dans le test « substances apparentées » (facteur de discrimination)	NA	Facteur de discrimination réécrit au niveau de t(a), pas d'impact sur la méthode
	Pas de modification en 2017	NA	NA
17	HPLC : correction limite d'exclusion	NA	Précision apportée à la limite d'exclusion qui passe de 0,1 à 0,10 : pas d'impact sur la méthode
	Pas de modification en 2017	NA	NA
18	<p>Ajout des codes X (Europe) et Y (Japon)</p> <p>Mise en conformité avec la Pharmacopée Japonaise édition XVI</p> <p>Pour les codes Japon X et Y (Japon) : Ajout d'une identification UV / Suppression du test « Aspect en solution »</p> <p>Pour tous les codes, substances apparentées par HPLC : Répétabilité sur la solution témoin (a) sur 6 injections / Ajout du nombre de plateaux théoriques sur le témoin (a) / Ajout d'une solution témoin (c) de détectabilité / Température du four colonne à 25°C</p> <p>Pour les codes X/Y fiche spécification aspect, suppression de « ou sensiblement blanche »</p> <p>Ajout des solubilités japonaises</p>	NA	<p>Substances apparentées : passage de répétabilité témoin (a) de 3 à 6 injections, ajout d'une solution témoin (c) (solution témoin à diluer) et ajout d'informations sur la méthode de routine, pas d'impact sur la validité de la méthode</p> <p>Le changement de température n'a pas d'impact sur la Ph. Eur. 9.3 car elle stipule dans le chapitre 1.2 dans le § « appareils et méthodes » que sauf indication contraire, les procédés analytiques sont effectués à une température comprise entre 15 et 25°C, nous nous plaçons donc à la limite supérieure</p> <p>Le reste des modifications n'a pas d'impact sur la validité des méthodes, prise en main effectuée sur les tests JP</p>
	<p>Ajout du test de particules étrangères pour le code Europe X</p> <p>Ajout des codes X (Europe) et Y (Japon)</p> <p>Pour tous les codes : ajout d'une référence de réactifs (gamme de charbon) pour le test des particules étrangères</p>	Revalidation de la méthode des solvants résiduels en prenant en compte les nouvelles spécifications : spécificité, SD/SQ,	Pas d'impact pour la méthode des solvants résiduels car elle a été revalidée, le reste des modifications concerne les méthodes pharmacopée donc pas d'impact

	<b>Solvants résiduels pour les codes Europe :</b> <b>Modification de la spécification du 2-butanone à 500ppm en remplacement du 50 ppm</b> Modification de la spécification de la somme des solvants à 1100 ppm en remplacement de 650 ppm	linéarité, exactitude, répétabilité, précision intermédiaire, reproductibilité	
19	HPLC : Modification du témoin de positionnement et de la résolution	NA	Témoin (a) passage de 25mg dans 25mL à 10mg dans 10mL : C° inchangée, pas d'impact sur la méthode. Pas d'impact du changement de résolution
	Pas de modification en 2017	NA	NA
20	Pas de modification en 2017	NA	NA
21	Pas de modification en 2017	NA	NA
22	Pas de modification en 2017	NA	NA
23	Pas de modification en 2017	NA	NA
24	Pas de modification en 2017	NA	NA
25	Pas de modification en 2017	NA	NA
26	Pas de modification en 2017	NA	NA
	Ajout du test des particules étrangères	NA	Méthode interne à titre informatif, pas d'impact sur la validation des méthodes
	Ajout des codes X, X et X HPLC : remplacement de la méthode impureté D par celle de la Ph. Eur.	Validation de la linéarité de l'impureté D et prise en main de la Ph. Eur. (sélectivité, répétabilité) Complément de validation en cours de finalisation pour l'USP	Pas d'impact pour la monographie Ph. Eur. car remplacement par une méthode décrite à la Ph. Eur.  Méthode non décrite à l'USP d'où une validation en cours de finalisation au CBD dans le cadre du plan maître de validation
	Tableau répertoriant les codes mis à jour et faisant le lien avec la qualité du produit 26 Fiche spécifications : Granulométrie laser : codes remplacés par la qualité du produit 26 réalisé par rapport à la note interne de l'UCC du 08/02/2017 Pour les tests « perte à la dessiccation, chlorhydrate de noroxymorphone et autres impuretés et teneur en chlorhydrate de naloxone » : suppression de la phrase « réalisés dans l'attente de l'acceptation du dossier US par la FDA » Granulométrie laser : Suppression des codes pour les différentes qualités du produit 26 dans les titres et remplacé par la qualité	NA	Pas d'impact

	Voie sèche : Ajout précision sur l'homogénéisation de l'échantillon et suppression du Malvern Mastersizer S Voie liquide : Ajout précision sur l'homogénéisation de l'échantillon sur le mode opératoire		
27	Test des substances apparentées par HPLC : ajout de précisions sur la stabilité des solutions (essai et témoin)	NA	Aucun impact sur la validité de la méthode
	Ajout du test des particules étrangères	NA	Méthode interne à titre informatif, pas d'impact sur la validation des méthodes
	Pas de modification en 2017	NA	NA
28	Pas de modification en 2017	NA	NA
	Correction spécification aspect poudre	NA	Pas d'impact car Ph. Eur.
	Modification du test complémentaire suivant CC X Ajout du test HPLC suivant la Pharmacopée Chinoise CHP2015 Correction du code produit dans l'historique X par X	Prise en main de la Pharmacopée Chinoise effectuée	Pas d'impact car méthode pharmacopée et prise en main effectuée
29	Pas de modification en 2017	NA	NA
30	Pas de modification en 2017	NA	NA
31	Pas de modification en 2017	NA	NA
32	Fiche technique : ajout de précisions conditions de stockage Ajout précision sur l'ordre chronologique des tests analytiques à réaliser	NA	Précisions : pas d'impact sur la validité des méthodes
	Fiche technique : ajout de précisions sur les conditions particulières de conservation d'échantillon Ajout précision sur l'ordre chronologique des tests analytiques à réaliser	NA	Seulement des précisions : pas d'impact sur la validité des méthodes
33	Ajout de la détermination de la coloration en solution exacte pour information	NA	Pour information : pas d'impact sur la validité de la méthode
	Mise à jour spécifications « Australie » pour le test granulométrie	NA	Pas d'impact sur la validité de la méthode car spécifications plus restrictives
	Pas de modification en 2017	NA	NA
	Création de la monographie à partir de la Pharmacopée Japonaise JP XVII code X	Prise en main de la Pharmacopée Japonaise effectuée	Pas d'impact car tests pharmacopées et prise en main effectuée

Annexe 3 : Grilles de screening analytiques

**Grille de screening pour la validation méthode chromatographique (Référentiel ICH (4) et ANVISA (5))**

Paramètre	Paramètre indispensable	Paramètre non indispensable	ANVISA	Commentaires
Spécificité	Solution contenant les impuretés d'intérêt ou solutions dopées Résolution de 1,5 entre pic principal et impureté et résolution 1,0 entre 2 impuretés	NA	Idem ICH	NA
SD	Détermination	NA	Détermination	NA
SQ	Détermination et vérification du S/B	Répétabilité au SQ	Détermination et vérification du S/B	NA
Linéarité dosage	5 points minimum injectés 1 fois de 80 à 120% de la concentration nominale  Coefficient de corrélation > 0,999  Equation de la droite	Vérification : zéro est compris dans l'intervalle de confiance à 95%	5 points mini si possible en triplicat, de 80 à 120% de la concentration nominale. Coefficient de corrélation > 0,990  Représentation graphique  Graphique des résidus accompagné de l'évaluation statistique	NA  Si non disponible dans le rapport, les données (représentation graphique, graphe des résidus...) peuvent être obtenues <i>via</i> le retraitement des données brutes de linéarité sur demande

			Equation de la droite Intersection avec l'axe des y Pente Ecart-type	
Linéarité impureté	5 points minimum, injectés 1 fois de la SQ à 120% de la spécification  Coefficient de corrélation > 0,997  Equation de la droite  À faire sur les impuretés disponibles et sur le PA	Vérification zéro est compris dans l'intervalle de confiance à 95%	5 points min injectés 1 fois de la SQ à 120% de la spécification Coefficient de corrélation > 0.99  Représentation graphique  Graphique des résidus accompagné de l'évaluation statistique  Equation de la droite  Intersection avec l'axe des Y	NA  Si non disponible dans le rapport, les données (représentation graphique, graphe des résidus...) peuvent être obtenues <i>via</i> le retraitement des données brutes de linéarité sur demande

			Pente Ecart-type	
Fidélité		Pas d'obligation de dopage pour les impuretés	NA	NA
Répétabilité de l'injection	NA	Non indispensable	NA	NA
Répétabilité de la détermination	6 déterminations indépendantes à 100% de la concentration de travail	NA	6 déterminations à 100 % de la concentration de travail de la SA	NA
Précision intermédiaire	4 séries de 3 déterminations	NA	2 séries de 6 déterminations (jours)	NA

	ou 2 séries de 6 déterminations	différents et analystes différents)		
Reproductibilité (transfert)	NA	NA	Non indispensable	La reproductibilité peut remplacer la précision intermédiaire
Exactitude	3 x 3 déterminations par exemple entre 80 et 120% Exemple de spécifications : - SA : recouvrement 98%-102% - Impureté : recouvrement 80%-120%	NA	3 x 3 déterminations par exemple entre 80 et 120% Exemple de spécifications : - SA : recouvrement 98%-102% - Impureté : recouvrement 80%-120%	NA
Facteur de réponse	À faire en fonction des impuretés d'intérêt	Pas de minimum requis	NA	À évaluer si fait sur moins de 3 déterminations
Robustesse	NA	NA	À réaliser	NA
Stabilité des solutions	À réaliser	NA	À réaliser (dans le cadre de la robustesse)	NA

**Grille de screening pour la validation méthode potentiométrique (Référentiel ICH (4) et ANVISA (5))**

Paramètre	Paramètre indispensable	Paramètre non indispensable	ANVISA	Commentaires
Vérification de la molarité de la solution titrante	À réaliser	NA	NA	NA
Spécificité	NA	NA	Justification de l'utilisation de la technique	NA
SD	NA	NA	NA	NA
SQ	NA	NA	NA	NA
Linéarité dosage	<p>5 points minimum (minimum 1 détermination par concentration) de 80 à 120% de la concentration de travail</p> <p>Requis :</p> <p>Coefficient de corrélation &gt; 0.999</p> <p>Equation de la droite</p>	<p>Vérification du passage par zéro dans un intervalle de confiance 95%</p>	<p>5 points minimum si possible en triplicat, de 80 à 120% par exemple</p> <p>Représentation graphique</p> <p>Graphique des résidus accompagné de l'évaluation statistique</p> <p>Equation de la droite</p> <p>Coefficient de corrélation</p> <p>R &gt; 0,99</p>	<p>Si non disponible dans le rapport, les données (représentation graphique, graphe des résidus...) peuvent être obtenues <i>via</i> le retraitement des données brutes de linéarité sur demande</p>

Fidélité	Pas d'obligation de dopage pour les impuretés : non indispensable			
Répétabilité de la détermination	6 déterminations indépendantes à 100% de la concentration de travail de la SA	NA	6 déterminations indépendantes à 100 % de la concentration de travail de la SA	Vérifier si CV ≤ 1,0% sinon justification
Précision intermédiaire	4 séries de 3 déterminations ou 2 séries de 6 déterminations	NA	2 séries de 6 déterminations (jours différents et analystes différents)	Vérifier si CV ≤ 3,0% sinon justification
Reproductibilité (transfert)	NA	NA	Non indispensable	NA
Exactitude	Comparaison du titre potentiométrique avec le titre obtenu avec une méthode orthogonale ou comparaison du titre théorique calculé au titre expérimental	NA	Comparaison du titre potentiométrique avec le titre obtenu avec une méthode orthogonale ou comparaison du titre théorique calculé au titre expérimental	Différence ≤ 0,5% À évaluer au cas par cas
Robustesse	NA	NA	Les variations effectuées doivent être justifiées et les résultats présentés	NA
Stabilité des solutions	NA	NA	NA	NA

**Grille de screening pour la validation de méthode KF (Karl Fischer) (Référentiel ICH (4) et ANVISA (5))**

Paramètre	Paramètre indispensable	Paramètre non indispensable	ANVISA	Commentaires
Spécificité	NA	NA	NA	NA
SD SQ	NA	NA	NA	NA
	En fonction du produit et des spécifications	NA	NA	NA
Linéarité dosage	5 points de 80 à 120% de la spécification Coefficient de corrélation > 0,999 si possible Equation de la droite	Vérification du passage par zéro dans un intervalle de confiance à 95%	5 points mini, si possible en triplicat, de 80 à 120% coefficient de corrélation > 0,990 Représentation graphique Graphique des résidus accompagné de l'évaluation statistique Equation de la droite Coefficient de corrélation $r > 0.99$	Si non disponible dans le rapport, les données (représentation graphique, graphe des résidus...) peuvent être obtenues via le retraitement des données brutes de linéarité sur demande
Fidélité	Pas d'obligation de dopage pour les impuretés : non indispensable			

Répétabilité de la détermination	6 déterminations indépendantes 100% de la concentration de travail de la SA	Non obligatoire	6 déterminations indépendantes 100% de la concentration de travail de la SA	CV dépendra de la spécification (entre 5 et 20%)
Précision intermédiaire	4 séries de 3 déterminations ou 2 séries de 6 déterminations	NA	2 séries de 6 déterminations (jours différents et analystes différents)	NA
Reproductibilité (transfert)	NA	NA	Non indispensable	NA
Exactitude	3 déterminations Exemple de spécifications : Recouvrement 80%-120%	NA	3 déterminations Exemple de spécifications : Recouvrement 80%-120%	NA
Robustesse	NA	Vérification du temps d'agitation avant dosage	Variations devant être justifiées et les résultats présentés	NA
Stabilité des solutions	NA	NA	NA	Non indispensable

*Annexe 4 : Plans d'actions incorporés dans le plan directeur de validation 2018*

<b>Numéro</b>	<b>Produit</b>	<b>Méthode</b>	<b>Bilan</b>
1	Produit 1	Solvants résiduels	- Exactitude - Stabilité des solutions - Robustesse
2	Produit 2	Solvants résiduels	- Exactitude - Robustesse - Stabilité des solutions
3	Produit 3	Solvants résiduels	- NA : méthode valide
4	Produit 4	Solvants résiduels	- Revalidation de la méthode sauf pour le benzène (validation décrite dans la partie exemple de revue et plan d'action sur un produit)
5	Produit 5	Solvants résiduels	- Exactitude - SQ - Stabilité des solutions
6	Produit 6	Dosage par potentiométrie	- Précision intermédiaire
7		SA par HPLC	- Exactitude - Précision intermédiaire
8		Solvants résiduels	- Exactitude - SD/SQ
9	Produit 7	Solvants résiduels	- Exactitude
10	Produit 8	SA par UPLC	- Développement et validation d'une nouvelle méthode en 2018 pour l'amélioration de la robustesse
11		Teneur en eau par KF	NA : méthode valide
12	Produit 9	Solvants résiduels	- Exactitude - Stabilité des solutions
13		SA par HPLC	- Précision intermédiaire
14		Dosage par potentiométrie	- Précision intermédiaire
15	Produit 10	Solvants résiduels	- SD/SQ - Exactitude
16	Produit 11	Granulométrie laser	NA : méthode valide
17		Solvants résiduels	- Exactitude
18	Produit 12 micronisé	Granulométrie laser	NA : méthode valide
19	Produit 12 broyé		
20	Produit 12 tamisé		
21	Produit 13	Solvants résiduels	NA : méthode valide

22	Produit 14	Solvants résiduels	NA : méthode valide
23	Produit 15	Solvants résiduels	- Exactitude - Vérification du SQ - Stabilité des solutions
24	Produit 16	Granulométrie laser	NA : méthode valide
25		Solvants résiduels	NA : méthode valide
26	Produit 17	Dosage par HPLC	- Exactitude - Précision intermédiaire
27		Détermination des acétates et des chlorures par HPLC ionique	NA : méthode valide
28	Produit 17, 18 et 19	Dosage par spectro UV	Revalidation complète de la méthode
29	Produit 17	Solvants résiduels	NA : méthode valide
30		Teneur en eau par KF	NA : méthode valide
31	Produit 18	Teneur en eau par KF	NA : méthode valide
32		Solvants résiduels	Pour le Brésil : - Robustesse - Stabilité des solutions
33	Produit 19	Méthode d'identification de l'acétate	NA : méthode valide
34	Produit 17,18 et 19	SA par HPLC	Ecrire un complément documentaire expliquant l'équivalence sur les 3 sels de l'exactitude
35	Produit 19	Solvants résiduels	NA : méthode valide
36		Teneur en eau par KF	NA : méthode valide
37	Produit 20	Dosage de l'antimoine trivalent par polarographie	Revalidation de la méthode
38		Solvants résiduels	NA : méthode valide
39		Dosage de l'arsenic et du nickel	À planifier avec le sous-traitant - Exactitude - Stabilité des solutions Précision intermédiaire
40	Produit 21	Dosage de l'eau par KF	NA : méthode valide
41	Produit 22	Solvants résiduels	NA : méthode valide
42	Produit 23	Pouvoir rotatoire	Précision intermédiaire
43		Dosage de l'eau par KF	Précision intermédiaire
44		Dosage par potentiométrie	NA : méthode valide
45		Dosage par potentiométrie des chlorures	NA : méthode valide

46		SA par HPLC	NA : méthode valide
47	Produit 24	Solvants résiduels	Mise en place d'un SST sur chacun des solvants spécifiés (répétabilité) et demande de modification de la monographie
48	Produit 25	Dosage de l'indice procyanidolique	Validation de la méthode déjà prévue dans le plan directeur de validation 2018
49		Recherche des monomères par HPLC	Revalidation de la méthode
50		Teneur en eau	La validation de la méthode est incluse dans le plan maître de validation 2018
51	Produit 14	SA par HPLC	NA : méthode valide

## Annexe 5 : Méthode étudiée pour la revue de validation et plans d'actions associés

Opérez par chromatographie en phase gazeuse (Ph. Eur. 2.2.28) en utilisant un appareil équipé du système d'injection espace de tête statique et de flacons sertissables et compatibles avec le système d'injection.

### Solution témoin T1 :

Dissolvez 0,5 g de méthanol (R), 0,5 g d'éthanol (R), 0,05 g de chloroforme (R) et 0,10 de toluène (R), dans du diméthylsulfoxyde (R) et complétez à 100,0 ml avec le même solvant.

### Solution témoin T2 :

Diluez 1,0 ml de la solution témoin T1 à 10,0 ml avec du diméthylsulfoxyde (R).

Introduisez respectivement dans des flacons compatibles avec le système d'injection :

- 1,0 ml de diméthylsulfoxyde (R) (blanc)
- 1,0 ml de la solution témoin T2 (préparez au minimum 3 flacons de solution témoin T2)
- 0,5 g de produit 4, substance à examiner, et 1,0 ml de diméthylsulfoxyde (R) (préparez 3 flacons de solution à analyser)

### Conditions chromatographiques :

La chromatographie peut être réalisée en utilisant :

- Une colonne (r) capillaire en silice fondue d'une **longueur minimale de 30 m** et de 0,32 mm de diamètre interne imprégnée d'un film de 5 µm de polydiméthylsiloxane
- De l'hélium pour chromatographie (R) à un débit de l'ordre de 2 ml.min<sup>-1</sup>
- Un détecteur à ionisation de flamme
- Température de l'injecteur : 130°C
- Température du détecteur : 250°C
- Température du four : 40°C pendant 1 minute puis augmentez de 5°C.min<sup>-1</sup> jusqu'à 155°C et maintenez cette température pendant 5 minutes
- Conditionnez chaque flacon à 80°C pendant 10 minutes, pressurisez pendant 4 minutes, le temps d'injection étant de 0,15 minutes (ou volume d'injection de 1 ml)

Les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin T2 présentent des pics dont l'ordre d'élution est le suivant : méthanol, éthanol, chloroforme, et toluène.

Injectez successivement la solution « blanc », la solution à analyser et la solution témoin T2.

La teneur en benzène en ppm est calculée par rapport au témoin de toluène selon la formule suivante :

$$\frac{P_{tol} \times S_b \times k \times 1000}{P_e \times S_{tol}} \quad (\text{Eq. 27})$$

Avec

- $P_{tol}$  : Prise d'essai en g du toluène dans la solution témoin T1
- $P_e$  : Prise d'essai en g de la solution à examiner
- $S_b$  : Surface du pic de benzène dans le chromatogramme obtenu avec la solution à analyser
- $S_{tol}$  : Surface moyenne du pic de toluène dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin T2
- $k$  : Coefficient de réponse multiplicateur du benzène par rapport au toluène = 0,57

La teneur en chacun des autres solvants résiduels présents dans la substance à examiner en ppm sont calculés selon cette formule :

$$\frac{P_t * s * 0,1 * 1000}{P_e * S} \quad (\text{Eq.28})$$

Avec

- $P_t$  : Prise d'essai en g de chaque solvant dans la solution de témoin T1
- $P_e$  : Prise d'essai de substance à examiner
- $s$  : Surface du pic de chaque solvant résiduel dans le chromatogramme obtenu avec la solution à analyser
- $S$  : Surface du pic de chaque solvant résiduel correspondant dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin T2

**Réactifs :**

- Colonne capillaire : **DB1 réf 123-1065 ou équivalent**
- Chloroforme (R)
- Diméthylsulfoxyde (R)
- Ethanol (R)
- Méthanol (R)
- Toluène (R)

*Annexe 6 : Exemple de revue de validation*

**Revue 2018 de la méthode de recherche des solvants résiduels dans le  
Produit 4 par chromatographie en phase gazeuse à espace de tête**

Version	Description
01	Création du document

Cette méthode porte sur la recherche des solvants résiduels dans la substance active « produit 4 » par chromatographie en phase gazeuse à espace de tête. Les solvants recherchés sont : le méthanol (pas supérieur à 0,1%), l'éthanol (pas supérieur à 0,2%), le toluène (pas supérieur à 0,2%), le chloroforme (pas supérieur à 0,05%) et le benzène (pas supérieur à 0,002%).

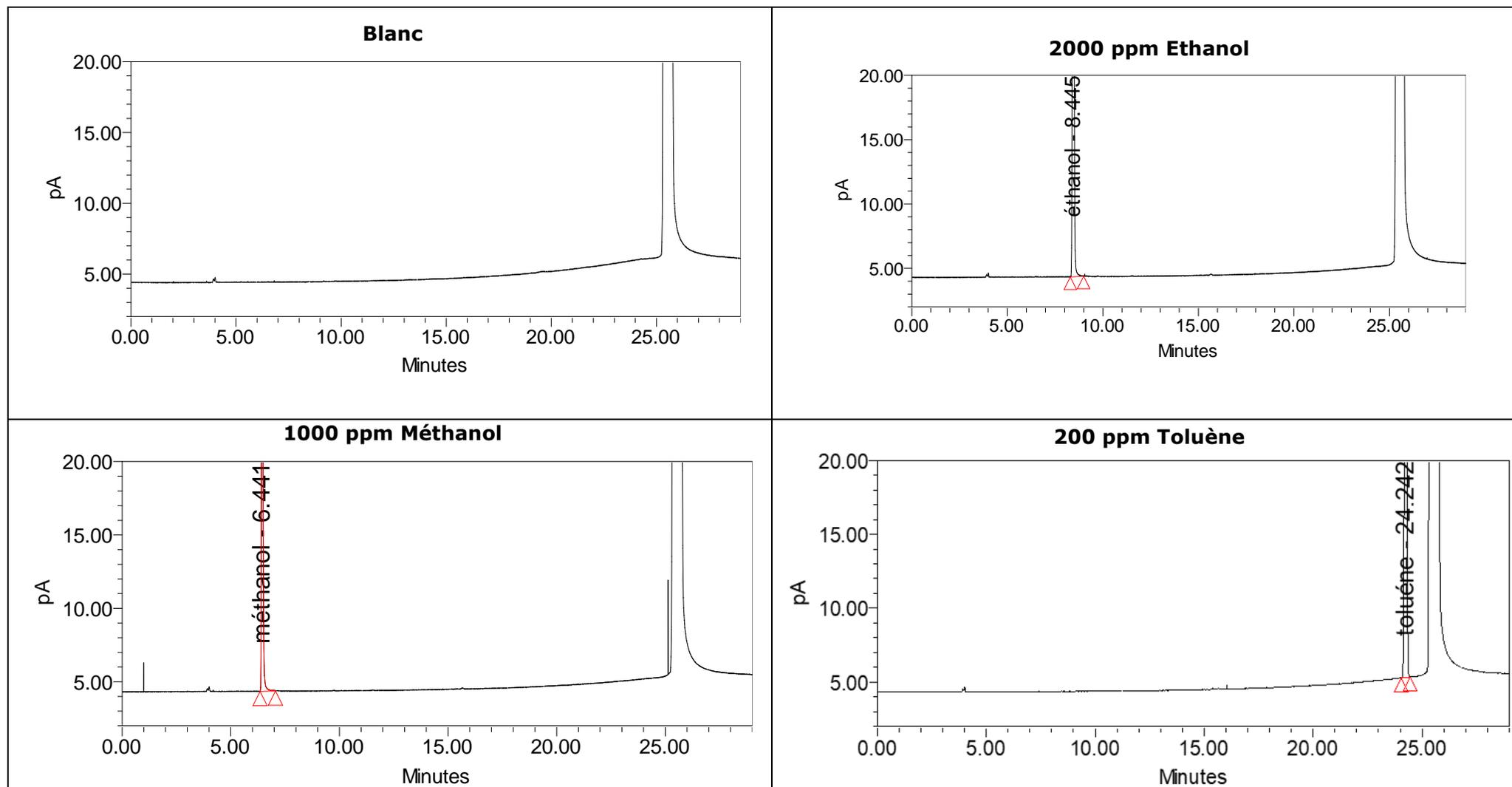
La méthode a été validée initialement en 2002 par le laboratoire de développement analytique . Suite à l'ajout de la recherche du benzène en 2013, un complément de validation a été effectué pour ce solvant par le laboratoire de contrôle qualité.

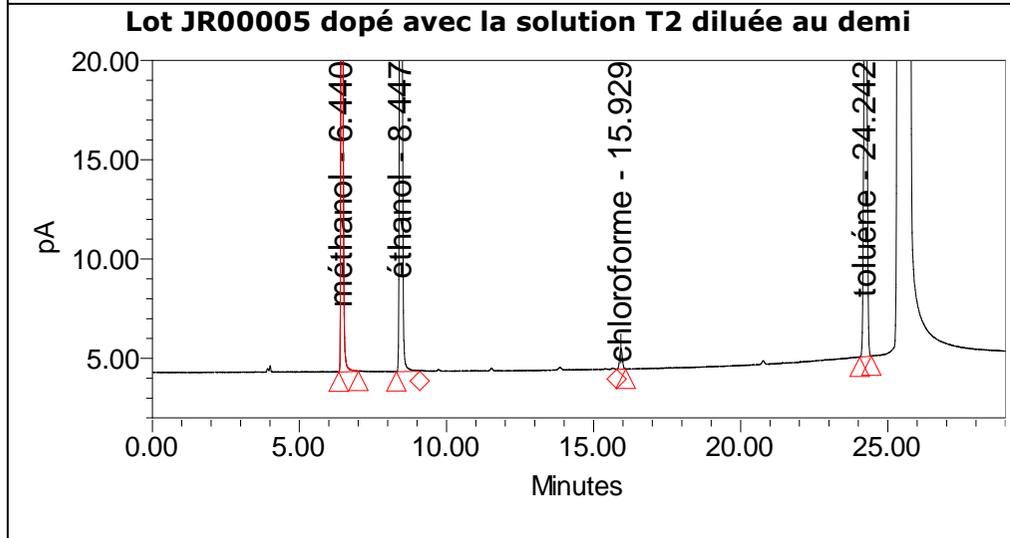
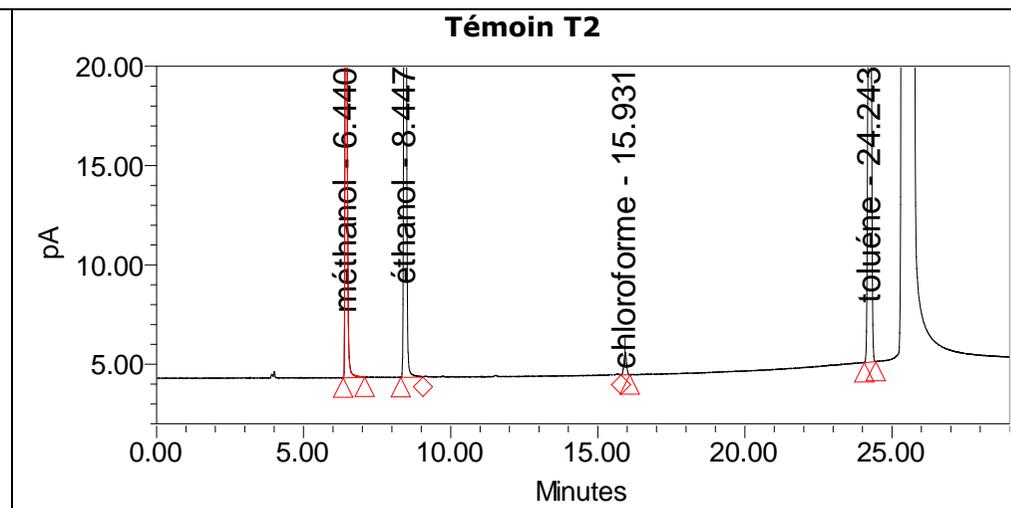
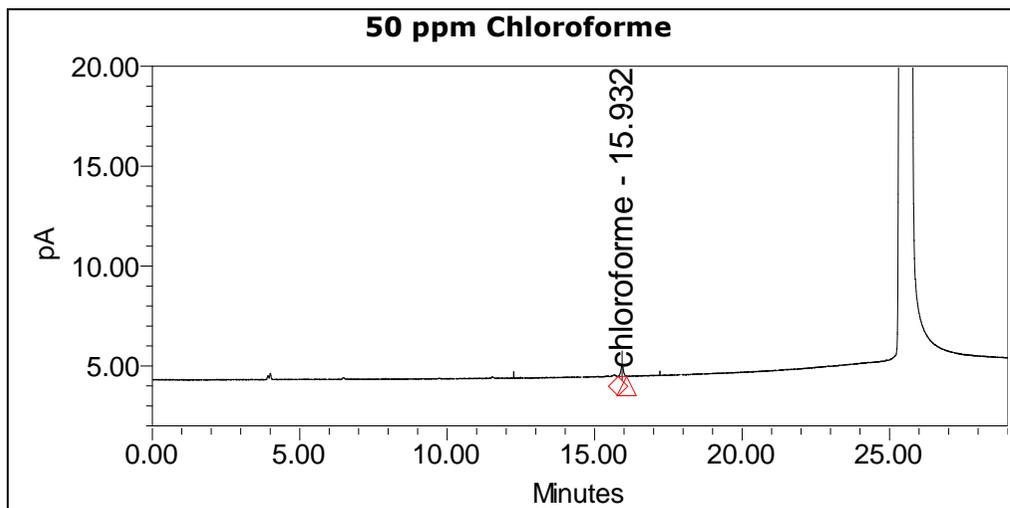
Élément	Requis	Évaluation
<b>1- Validation vs utilisation</b>	La validation est-elle en accord avec la méthode de routine ?	Non : validation effectuée sur une colonne de 30m contre 60m pour l'utilisation en routine  Témoin utilisé pour la quantification du chloroforme ne rentre pas dans la gamme de linéarité de la validation
	La méthode est-elle révélatrice de la stabilité du produit ? Cela a-t-il été vérifié au cours de la validation ?	NA
<b>2- Méthode pharmacopée</b>	Une prise en main a-t-elle été réalisée ?	NA : méthode interne
<b>3- Protocole et rapport de validation</b>	Protocole et rapport approuvés présents et en accord avec les directives	<u>Validation initiale :</u> Protocole : Manquant Rapport : Référence X

		<u>Complément de validation :</u> Protocole : référence X Rapport : Référence X
<b>4-Paramètre de validation en accord avec les directives si applicable</b>	Spécificité	OUI
	SD / SQ	Pas de vérification du S/B et de répétabilité de la SQ  Mise à part pour le benzène
	Linéarité	OUI pour le benzène  Pour les autres solvants :  Le rapport ne présente pas d'équation de la droite et la vérification du passage par 0 dans un intervalle de confiance à 95%
	Exactitude	OUI pour le benzène  Pour les autres solvants :  Seulement 2 séries de 3 répétitions contre 3 séries de 3 recommandées par ICH Q2 (R1)
	Précision	Répétabilité : OUI  Précision intermédiaire : OUI  <u>Remarque</u> : Pas de coefficient de variation global ou de recouvrement Données à retraiter
	Robustesse	Le rapport de validation ne permet pas de conclure quant à la robustesse de la méthode
	Stabilité des solutions	Le rapport de validation ne permet pas de conclure quant à la stabilité des solutions
<b>5-System suitability</b>	SST adapté à l'application	Répétabilité du méthanol
	<i>Bracket</i>	OUI

	<i>Carry over</i>	NA
	Validation de la durée de la séquence	NA
<b>6-Calculs</b>	Sont-ils validés ?	OUI
<b>7-Equipement spécifique</b>	La vérification périodique est-elle en accord avec l'application de la méthode ?	OUI
	Les QI/QO/QP sont-elles disponibles ?	OUI Salle de réunion de l'UCC
<b>8-Réactif critique, standard spécifique</b>	Y a-t-il une procédure de préparation et de qualification ?	NA : réactifs et standards achetés à des fournisseurs accrédités par le service CPG de l'UCC
	Sont-ils qualifiés pour leur application ?	OUI
	Les dates de <i>retest</i> ou de péremption sont-elles justifiées ?	OUI
<b>9-Stabilité des échantillons</b>	La stabilité à court terme des échantillons est-elle documentée dans la méthode actuelle ?	La monographie ne permet pas de conclure quant à la stabilité des échantillons à court terme
<b>11- Modification de méthode</b>	Est-ce qu'il y a eu une modification qui aurait impacté le statut validé de la méthode ?	NON
<b>Etat de validation</b>	Valide <input type="checkbox"/>	Complément de validation nécessaire : <input checked="" type="checkbox"/>
	Compléments de validation identifiés	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Revalidation de la méthode sauf pour le benzène</li> <li>- Ouverture d'une déviation</li> </ul>

Annexe 7 : Chromatogrammes obtenus pour la vérification du paramètre de spécificité de la validation de la méthode des solvants résiduels du produit 4





*Annexe 8 : Calcul des concentrations pour la détermination des SD/SQ de la validation de la méthode des solvants résiduels*

Les concentrations en solvants dans la solution témoin diluée 10 fois sont les suivantes :

$$C(\text{EtOH}) = \frac{0,9836}{100 \times 10 \times 10 \times 0,5} \times 1E6 = 98,36 \text{ ppm}$$

$$C(\text{Méthanol}) = \frac{0,4849}{100 \times 10 \times 10 \times 0,5} \times 1E6 = 96,98 \text{ ppm}$$

$$C(\text{Chloroforme}) = \frac{2 \times 0,0227}{100 \times 10 \times 10 \times 0,5} \times 1E6 = 9,08 \text{ ppm}$$

$$C(\text{Toluène}) = \frac{0,0965}{100 \times 10 \times 10 \times 0,5} \times 1E6 = 19,3 \text{ ppm}$$

Annexe 9 : Calcul des SD et SQ théoriques de la validation de la méthode des solvants résiduels

Les formules utilisées sont les suivantes :

$$SD = \frac{3h * C}{2H}$$

$$SQ = \frac{10h * C}{2H}$$

**Ethanol :**

$$SD(EtOH) = \frac{3 \times 98,36 \times 0,03}{2 \times 5,39} = 0,82 \text{ ppm}$$

$$SQ(EtOH) = \frac{10 \times 98,36 \times 0,03}{2 \times 5,39} = 2,74 \text{ ppm}$$

**Méthanol :**

$$SD(Methanol) = \frac{3 \times 96,98 \times 0,028}{2 \times 5,17} = 0,78 \text{ ppm}$$

$$SQ(Methanol) = \frac{10 \times 96,98 \times 0,028}{2 \times 5,17} = 2,63 \text{ ppm}$$

**Chloroforme :**

$$SD(Chloroforme) = \frac{3 \times 9,08 \times 0,021}{2 \times 0,11} = 2,60 \text{ ppm}$$

$$SQ(Chloroforme) = \frac{10 \times 9,08 \times 0,021}{2 \times 0,11} = 8,66 \text{ ppm}$$

**Toluène :**

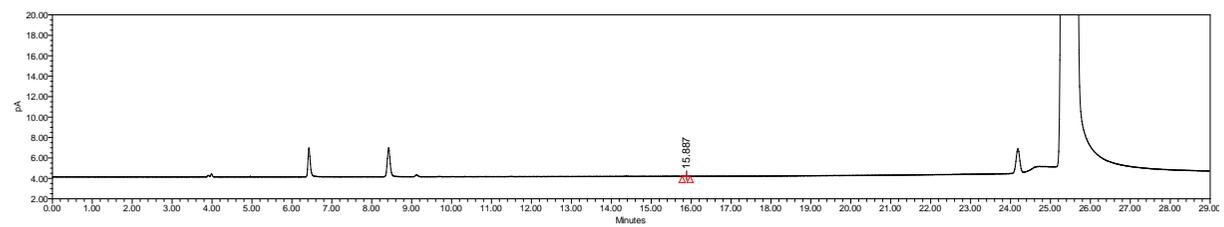
$$SD(\text{Toluène}) = \frac{3 \times 19,3 \times 0,039}{2 \times 3,22} = 0,35 \text{ ppm}$$

$$SQ(\text{Toluène}) = \frac{10 \times 19,3 \times 0,039}{2 \times 3,22} = 1,17 \text{ ppm}$$

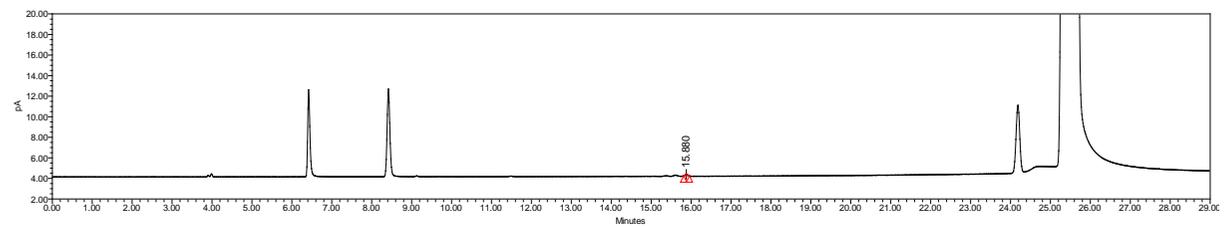
*Annexe 10 : Vérification des SQ des différents solvants pour la validation de la méthode des solvants résiduels du produit 4*

Seuil de quantification	Aire SQ (Méthanol)	S/B (Méthanol)	Aire SQ (Ethanol)	S/B (Ethanol)	Aire SQ (Chloroforme)	S/B (Chloroforme)	Aire SQ (Toluène)	S/B (Toluène)
Injection 1	2,40	40,00	5,810	45,43	1,32	14,81	6,34	14,20
Injection 2	2,36	39,23	5,49	42,770	1,30	14,81	5,85	13,62
Injection 3	2,30	40,80	5,610	43,48	1,35	15,55	6,28	13,93
Injection 4	2,41	40,80	5,59	43,89	1,27	14,81	5,94	13,99
Injection 5	2,36	42,40	5,8	44,32	1,23	14,81	6,040	13,96
Injection 6	2,27	40,80	5,61	43,21	1,25	14,81	5,65	13,53
Moyenne	2,35	40,67	5,6517	43,85	1,2867	14,96	6,02	13,87
<b>CV (%)</b>	<b>2,3</b>	<b>2,6</b>	<b>2,2</b>	<b>2,1</b>	<b>3,5</b>	<b>2,2</b>	<b>4,4</b>	<b>1,8</b>

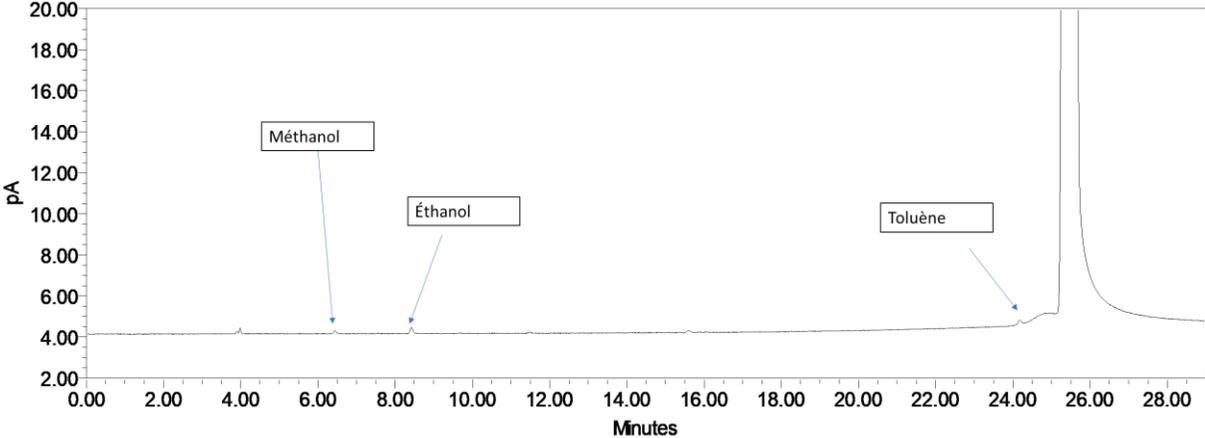
### Profil chromatographique de la solution de chloroforme au (SD)



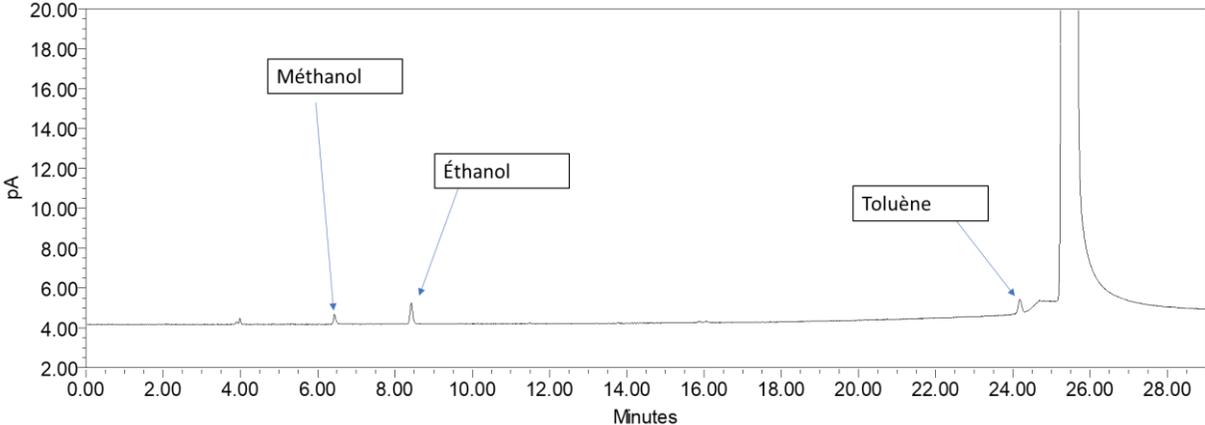
### Profil chromatographique de la solution de chloroforme au (SQ)



Profil chromatographique de la solution de l'éthanol, du méthanol et du toluène au (SD)



Profil chromatographique de la solution de l'éthanol, du méthanol et du toluène au (SQ)



*Annexe 11 : Etude de la linéarité de la méthode de dosage des solvants résiduels*

<i>Ethanol</i>							
<i>Niveaux</i>	<i>Concentration ppm</i>	<i>Aire</i>	<i>Aire Régression</i>	<i>Résidus</i>	<i>Carré Résidu</i>	<i>Concentration au carré</i>	<i>Ecart à la moyenne sur X</i>
1	19,86	5,9500	4,496676224	1,453	2,112149997	5,68596533	1037819,545
2	19,86	5,6500	4,496676224	1,153	1,330155731	10,02685203	1037819,545
3	19,86	5,6300	4,496676224	1,133	1,28442278	10,31857219	1037819,545
4	99,32	27,7200	28,10217978	-0,382	0,146061383	781,5445557	882236,1838
5	99,32	27,7900	28,10217978	-0,312	0,097456214	784,2645419	882236,1838
6	99,32	29,1200	28,10217978	1,018	1,035958003	732,5803612	882236,1838
7	198,6	57,7200	57,59569089	0,124	0,015452755	3315,483824	705590,4
8	198,6	58,5900	57,59569089	0,994	0,988650607	3204,35701	705590,4
9	198,6	60,1000	57,59569089	2,504	6,271564119	2634,165989	705590,4
10	993,2	287,8400	293,6507264	-5,811	33,76454169	67540,82902	2060,641176
11	993,2	292,7400	293,6507264	-0,911	0,829422638	85744,31596	2060,641176
12	993,2	299,2400	293,6507264	5,589	31,23997899	68859,40037	2060,641176
13	1589,1	466,4500	470,6771494	-4,227	17,86879197	205035,4086	303056,5415
14	1589,1	470,5900	470,6771494	-0,087	0,007595016	221529,8294	303056,5415
15	1589,1	480,8400	470,6771494	10,163	103,2835325	134978,0697	303056,5415
16	1986,4	565,8600	588,7046672	-22,845	521,8788178	4465,694149	898335,672

17	1986,4	566,9500	588,7046672	-21,755	473,2655433	13326,19131	898335,672
18	1986,4	581,5300	588,7046672	-7,175	51,47584889	288614,8032	898335,672
19	2383,68	718,8100	706,7262435	12,084	146,0171723	314394,6625	1809255,579
20	2383,68	730,6800	706,7262435	23,954	573,7824527	17674,0515	1809255,579
21	2383,68	710,0600	706,7262435	3,334	11,11393271	483876,4869	1809255,579
Nombre de points saisis		21					
ddl		19					
Coefficient de Student associé		2,093					
Pente b		0,297074044					
Ordonnée à l'origine		-1,403214294					
X Barre		1038,59428571					
Résiduelle Sy,x		10,2027					
Ecart type a		3,4052					
a/Sa		0,412					
Coefficient de détermination R <sup>2</sup>		0,99868					
Coefficient de corrélation R		0,99934					
Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine		{5,723 à -8,53}					

## Méthanol :

Niveaux	Concentration ppm	Aire	Aire Régression	Résidus	Carré Résidu	Concentration au carré	Ecart à la moyenne sur X
1	10,086	3,1800	2,079399956	1,101	1,211320457	0,753562017	267565,8882
2	10,086	2,4900	2,079399956	0,411	0,168592396	3,651185531	267565,8882
3	10,086	2,6100	2,079399956	0,531	0,281536407	3,232313342	267565,8882
4	50,43	10,9600	11,38938176	-0,429	0,184368696	125,5523178	227456,2292
5	50,43	10,9800	11,38938176	-0,409	0,167593426	125,9285334	227456,2292
6	50,43	11,6800	11,38938176	0,291	0,084458961	127,8012795	227456,2292
7	100,86	22,9700	23,02685902	-0,057	0,003232948	530,0873574	181896,8883
8	100,86	23,3700	23,02685902	0,343	0,117745734	524,8274714	181896,8883
9	100,86	23,9600	23,02685902	0,933	0,870752095	490,8930739	181896,8883
10	504,3	113,4400	116,1266771	-2,687	7,218233646	11861,04905	531,4737424
11	504,3	115,0200	116,1266771	-1,107	1,224734124	13202,45649	531,4737424
12	504,3	118,2600	116,1266771	2,133	4,551066749	12449,11682	531,4737424
13	806,88	184,4300	185,9515406	-1,522	2,315085796	33722,34753	78134,94441
14	806,88	186,0900	185,9515406	0,138	0,019171006	34570,84606	78134,94441
15	806,88	190,4300	185,9515406	4,478	20,0565986	27521,13178	78134,94441
16	1008,6	225,1400	232,5014496	-7,361	54,19094055	31794,63764	231597,9875

17	1008,6	225,2700	232,5014496	-7,231	52,29386365	32474,77404	231597,9875
18	1008,6	231,0100	232,5014496	-1,491	2,224421978	53027,50946	231597,9875
19	1210,32	282,3000	279,0513586	3,249	10,55367064	72091,00846	466442,9474
20	1210,32	287,7600	279,0513586	8,709	75,84043422	41294,67981	466442,9474
21	1210,32	279,0300	279,0513586	-0,021	0,000456192	77869,40616	466442,9474
Nombre de points saisis		21					
ddl		19					
Coefficient de Student associé		2,093					
Pente b		0,230764966					
Ordonnée à l'origine		-0,248095495					
X Barre		527,35371429					
Résiduelle $S_{y,x}$		3,5062					
Ecart type a		1,1702					
a/Sa		0,212					
Coefficient de détermination $R^2$		0,99900					
Coefficient de corrélation R		0,99950					
Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine		{2,201 à -2,697}					

<i>Toluène</i>							
<i>Niveaux</i>	Concentration ppm	Aire	Aire Régression	Résidus	Carré Résidu	Concentration au carré	Ecart à la moyenne sur X
1	1,924	4,9400	3,056027133	1,884	3,549353764	0,243371165	9736,501891
2	1,924	4,1600	3,056027133	1,104	1,218756091	3,375564881	9736,501891
3	1,924	4,7100	3,056027133	1,654	2,735626245	0,102656729	9736,501891
4	9,62	15,2800	15,26755334	0,012	0,000154919	233,0934544	8276,944497
5	9,62	16,6900	15,26755334	1,422	2,023354512	175,4088025	8276,944497
6	9,62	16,7100	15,26755334	1,442	2,080652378	173,8943569	8276,944497
7	19,24	31,4300	30,53196109	0,898	0,806473884	883,6045897	6619,077674
8	19,24	32,6200	30,53196109	2,088	4,359906489	684,976442	6619,077674
9	19,24	31,8500	30,53196109	1,318	1,737226568	829,1367362	6619,077674
10	96,2	150,8700	152,6472231	-1,777	3,158522025	22346,87176	19,33989094
11	96,2	151,2000	152,6472231	-1,447	2,094454765	22666,13606	19,33989094
12	96,2	152,4400	152,6472231	-0,207	0,042941422	23288,06679	19,33989094
13	153,92	240,8900	244,2336696	-3,344	11,1801267	54313,95388	2843,266154
14	153,92	240,3500	244,2336696	-3,884	15,08288992	52510,07985	2843,266154
15	153,92	244,7800	244,2336696	0,546	0,298476856	59504,37828	2843,266154
16	192,4	289,8300	305,2913007	-15,461	239,0518182	4387,669043	8427,659662
17	192,4	289,5300	305,2913007	-15,761	248,4185986	3234,504245	8427,659662

18	192,4	294,0500	305,2913007	-11,241	126,3668406	32013,96242	8427,659662
19	230,88	378,5400	366,3489317	12,191	148,6221468	47404,95284	16973,47397
20	230,88	383,6700	366,3489317	17,321	300,0194078	4399,605735	16973,47397
21	230,88	377,5900	366,3489317	11,241	126,361617	57593,91119	16973,47397
Nombre de points saisis		21					
ddl		19					
Coefficient de Student associé		2,093					
Pente b		1,586736773					
Ordonnée à l'origine		0,003145582					
X Barre		100,59771429					
Résiduelle $S_{y,x}$		8,0760					
Ecart type a		2,6954					
a/Sa		0,001					
Coefficient de détermination $R^2$		0,99691					
Coefficient de corrélation R		0,99845					
Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine		{5,644 à -5,638}					

Chloroforme							
Niveaux	Concentration ppm	Aire	Aire Régression	Résidus	Carré Résidu	Concentration au carré	Ecart à la moyenne sur X
1	14,94	1,3200	1,349995205	-0,030	0,000899712	1,820058647	2977,385995
2	14,94	1,3000	1,349995205	-0,050	0,00249952	1,815744619	2977,385995
3	14,94	1,3500	1,349995205	0,000	2,29962E-11	1,822487052	2977,385995
4	30,102	2,8400	2,726370589	0,114	0,012911643	7,362859449	1552,630183
5	30,102	2,8200	2,726370589	0,094	0,008766467	7,385372164	1552,630183
6	30,102	2,8000	2,726370589	0,074	0,00542129	7,403565085	1552,630183
7	50,17	4,7100	4,54810263	0,162	0,026210758	20,4475061	373,858798
8	50,17	4,5400	4,54810263	-0,008	6,56526E-05	20,68464035	373,858798
9	50,17	4,4700	4,54810263	-0,078	0,006100021	20,6297877	373,858798
10	80,272	7,1400	7,280700692	-0,141	0,019796685	52,720727	115,9190603
11	80,272	7,1000	7,280700692	-0,181	0,03265274	52,53419911	115,9190603
12	80,272	7,2300	7,280700692	-0,051	0,00257056	52,97117821	115,9190603
13	90,306	8,0000	8,191566712	-0,192	0,036697805	66,50188689	432,6637718
14	90,306	8,1600	8,191566712	-0,032	0,000996457	67,0854411	432,6637718
15	90,306	8,2100	8,191566712	0,018	0,000339786	67,09619855	432,6637718
16	100,34	9,0700	9,102432733	-0,032	0,001051882	82,83513339	950,7707952
17	100,34	9,0500	9,102432733	-0,052	0,002749191	82,80424055	950,7707952

18	100,34	9,1300	9,102432733	0,028	0,000759954	82,84044737	950,7707952
19	120,408	11,1600	10,92416477	0,236	0,055618254	118,1253035	2591,071778
20	120,408	10,9100	10,92416477	-0,014	0,000200641	119,3329924	2591,071778
21	120,408	11,0600	10,92416477	0,136	0,018451209	118,9345884	2591,071778
Nombre de points saisis		21					
ddl		19					
Coefficient de Student associé		2,093					
Pente b		0,090777957					
Ordonnée à l'origine		-0,006227473					
X Barre		69,50542857					
Résiduelle $S_{y,x}$		0,1112					
Ecart type a		0,0529					
a/Sa		0,118					
Coefficient de détermination $R^2$		0,99895					
Coefficient de corrélation R		0,99947					
Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine		{0,104 à -0,116}					

*Annexe 12 : Exactitude de la méthode des solvants résiduels*

Ethanol

Échantillons	Teneur iD en ppm	Teneur i en ppm	Teneur iA en ppm	Recouvrement (%)	Recouvrement moyen (%)
80%-1	1963,326	252,850	1582,460	108	106
80%-2	1821,631	252,850	1496,833	105	
80%-3	1929,119	252,850	1595,819	105	
100%-1	2179,956	252,850	1947,792	99	103
100%-2	2207,693	252,850	1866,466	105	
100%-3	2268,020	252,850	1925,868	105	
120%-1	2609,685	252,850	2210,245	107	108
120%-2	2651,762	252,850	2284,005	105	
120%-3	2670,984	252,850	2177,510	111	

Méthanol

Echantillons	Teneur iD en ppm	Teneur i en ppm	Teneur iA en ppm	Recouvrement (%)	Recouvrement moyen (%)
80%-1	901,185	4,294	790,592	113	112
80%-2	835,072	4,294	747,813	111	
80%-3	890,068	4,294	797,266	111	
100%-1	1032,855	4,294	973,111	105	109
100%-2	1043,015	4,294	932,481	111	
100%-3	1074,626	4,294	962,158	111	
120%-1	1305,476	4,294	1104,232	118	114
120%-2	1299,747	4,294	1141,082	114	
120%-3	1221,862	4,294	1087,877	112	

## Chloroforme

Echantillons	Teneur iD en ppm	Teneur i en ppm	Teneur iA en ppm	Recouvrement (%)	Recouvrement moyen (%)
80%-1	78,879	0,175	74,626	107	105
80%-2	74,478	0,175	70,588	105	
80%-3	78,124	0,175	75,256	104	
100%-1	89,394	0,175	91,855	97	100
100%-2	89,609	0,175	88,020	101	
100%-3	91,474	0,175	90,821	101	
120%-1	107,318	0,175	104,232	103	104
120%-2	109,924	0,175	107,710	102	
120%-3	109,684	0,175	102,688	107	

## Toluène

Echantillons	Teneur iD en ppm	Teneur i en ppm	Teneur iA en ppm	Recouvrement (%)	Recouvrement moyen (%)
80%-1	127,190	11,151	160,255	72	72
80%-2	117,858	11,151	151,584	70	
80%-3	127,868	11,151	161,608	72	
100%-1	139,562	11,151	197,252	65	69
100%-2	143,541	11,151	189,016	70	
100%-3	149,713	11,151	195,032	71	
120%-1	168,818	11,151	223,831	70	71
120%-2	175,710	11,151	231,300	71	
120%-3	171,846	11,151	220,516	73	

Annexe 13 : Etude de l'effet matrice de la méthode des solvants résiduels

Ethanol							
Niveaux	Concentration ppm	Aire	Aire Régression	Résidus	Carré Résidu	Concentration au carré	Ecart à la moyenne sur X
1	19,86	76,0800	75,27503276	0,805	0,647972261	5569,198158	1037819,545
2	99,32	98,6200	99,40511323	-0,785	0,616402788	9759,209311	882236,1838
3	198,6	132,1000	129,5540484	2,546	6,481869474	15146,76123	705590,4
4	993,2	370,8000	370,8548532	-0,055	0,00300887	137531,0904	2060,641176
5	1589,1	552,9100	551,8152729	1,095	1,198427338	303178,9107	303056,5415
6	1986,4	656,1900	672,4656753	-16,276	264,897607	166111,7303	898335,672
7	2383,68	805,7800	793,1100042	12,670	160,5287942	400158,9872	1809255,579
Nombre de points saisis		7					
ddl		5					
Coefficient de Student associé		2,571					
Pente b		0,303675818					
Ordonnée à l'origine		69,24403102					
X Barre		1038,59428571					
Résiduelle $S_{y,x}$		9,3207					

Ecart type a	5,3880
a/Sa	12,851
Coefficient de détermination R <sup>2</sup>	0,99917
Coefficient de corrélation R	0,99958
Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine	{ 83,094 à 55,393 }

Méthanol							
Niveaux	Concentration ppm	Aire	Aire Régression	Résidus	Carré Résidu	Concentration au carré	Ecart à la moyenne sur X
1	10,086	3,2700	2,114004059	1,156	1,336326616	0,604782206	267565,8882
2	50,43	12,3400	12,14689511	0,193	0,0372895	146,642548	227456,2292
3	100,86	24,7500	24,68800892	0,062	0,003842894	609,3080523	181896,8883
4	504,3	123,7700	125,0169194	-1,247	1,554807992	15242,89295	531,4737424
5	806,88	200,4200	200,2636023	0,156	0,024460252	40095,71399	78134,94441
6	1008,6	246,1500	250,4280575	-4,278	18,30177602	53882,61056	231597,9875
7	1210,32	304,5500	300,5925127	3,957	15,66170536	81185,565	466442,9474
Nombre de points saisis		7					
ddl		5					
Coefficient de Student associé		2,571					
Pente b		0,248683597					
Ordonnée à l'origine		-0,394218703					
X Barre		527,35371429					
Résiduelle Sy,x		2,7174					
Ecart type a		1,5708					

a/Sa	0,251
Coefficient de détermination R <sup>2</sup>	0,99959
Coefficient de corrélation R	0,99979
Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine	{ 3,643 à -4,432 }

Chloroforme							
Niveaux	Concentration ppm	Aire	Aire Régression	Résidus	Carré Résidu	Concentration au carré	Ecart à la moyenne sur X
1	30,102	2,5300	2,549774436	-0,020	0,000391028	6,49935576	2130,413261
2	50,17	4,2100	4,212481203	-0,002	6,15637E-06	17,74494602	680,6046146
3	80,272	6,7400	6,706541353	0,033	0,001119481	44,96268249	16,10898496
4	100,34	8,4000	8,36924812	0,031	0,000945678	70,02848576	579,9234586
5	120,408	9,9900	10,03195489	-0,042	0,001760213	100,6048052	1949,18718
Nombre de points saisis		5					
ddl		3					
Coefficient de Student associé		3,182					
Pente b		0,082853636					
Ordonnée à l'origine		0,055714286					
X Barre		76,25840000					
Résiduelle Sy,x		0,0375					
Ecart type a		0,0425					
a/Sa		1,310					
Coefficient de détermination R <sup>2</sup>		0,99989					
Coefficient de corrélation R		0,99994					

Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine	{ 0,191 à -0,079 }
--	--------------------

Toluène							
Niveaux	Concentration ppm	Aire	Aire Régression	Résidus	Carré Résidu	Concentration au carré	Ecart à la moyenne sur X
1	1,924	18,0300	16,23011747	1,800	3,239577124	168,7541385	9736,501891
2	9,62	25,7200	24,93294953	0,787	0,619448437	591,1463355	8276,944497
3	19,24	37,2100	35,81148961	1,399	1,955831303	1146,2056	6619,077674
4	96,2	120,6200	122,8398102	-2,220	4,927557543	13903,29934	19,33989094
5	153,92	183,2100	188,1110507	-4,901	24,02029823	26925,77506	2843,266154
6	192,4	226,2700	231,625211	-5,355	28,67828534	41187,45465	8427,659662
7	230,88	283,6300	275,1393714	8,491	72,09077464	41228,73263	16973,47397
Nombre de points saisis		7					
ddl		5					
Coefficient de Student associé		2,571					
Pente b		1,130825372					
Ordonnée à l'origine		14,05440945					
X Barre		100,59771429					
Résiduelle $S_{y,x}$		5,2064					
Ecart type a		3,0097					

a/Sa	4,670
Coefficient de détermination $R^2$	0,99800
Coefficient de corrélation R	0,99900
Intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine	{ 21,791 à 6,317 }

*Annexe 14 : Etude de la stabilité des solutions de la méthode des solvants résiduels du produit 4*

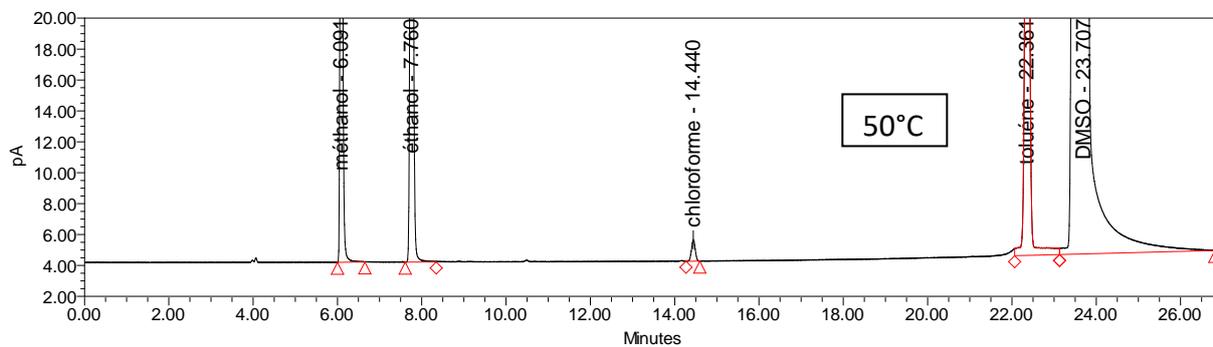
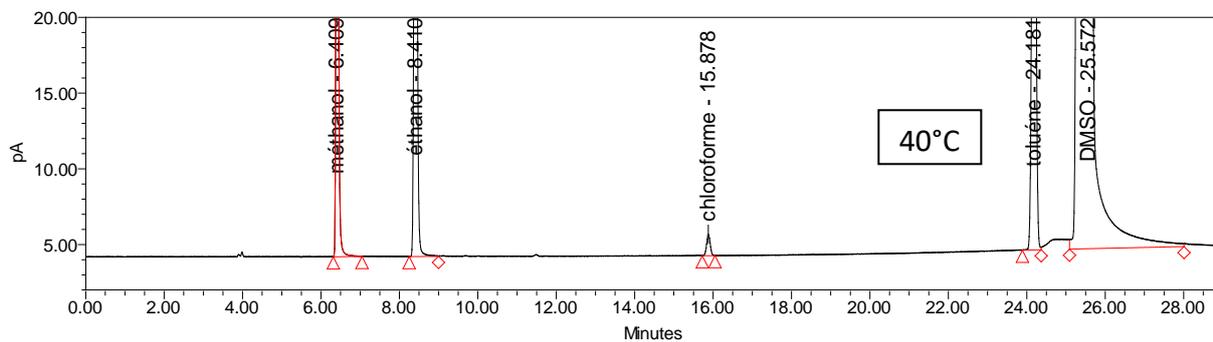
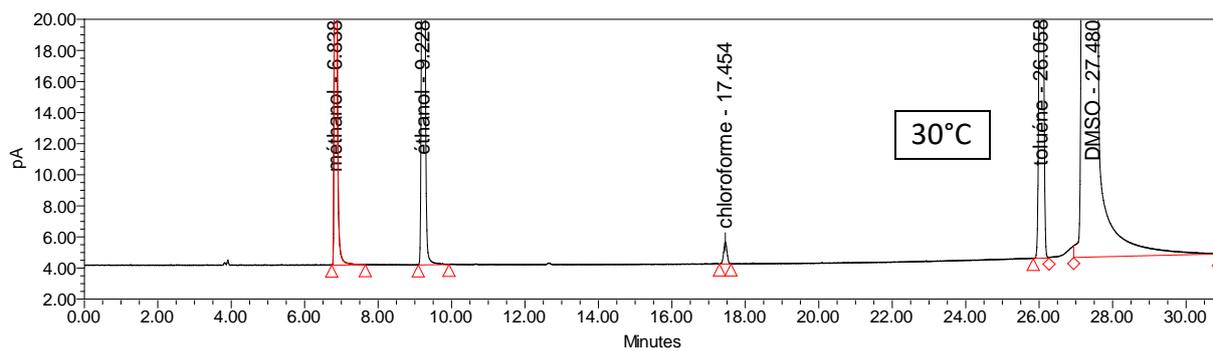
	T0	T 24h	T 48h	T 96h	Recouvrement T 24h	Recouvrement T 48h	Recouvrement T 96h
Méthanol	528,943	542,780	583,336	556,727	103%	110%	105%
Ethanol	728,056	742,073	784,33	759,533	102%	108%	104%
Chloroforme	46,034	47,399	50,178	48,059	103%	109%	104%
Toluène	84,512	82,668	92,501	86,366	98%	109%	102%

Annexe 15 : Etude de la robustesse pour la méthode des solvants résiduels du produit 4

Etude de la température du four CPG :

30°C	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,838	NA	103%
Ethanol	9,228	20,6	102%
Chloroforme	17,454	54,8	103%
Toluène	26,058	51,3	103%
DMSO	27,48	5,4	NA
40°C	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,409	NA	NA
Ethanol	8,410	18,1	NA
Chloroforme	15,878	51,5	NA
Toluène	24,181	49,6	NA
DMSO	25,572	5,4	NA
50°C	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,838	NA	103%
Ethanol	9,228	20,5	102%
Chloroforme	17,454	54,8	103%
Toluène	26,058	51,3	103%
DMSO	27,480	5,4	NA

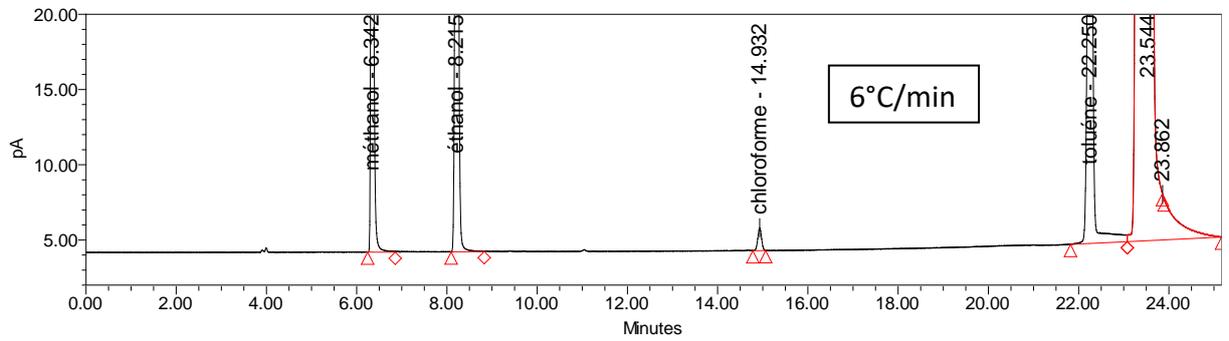
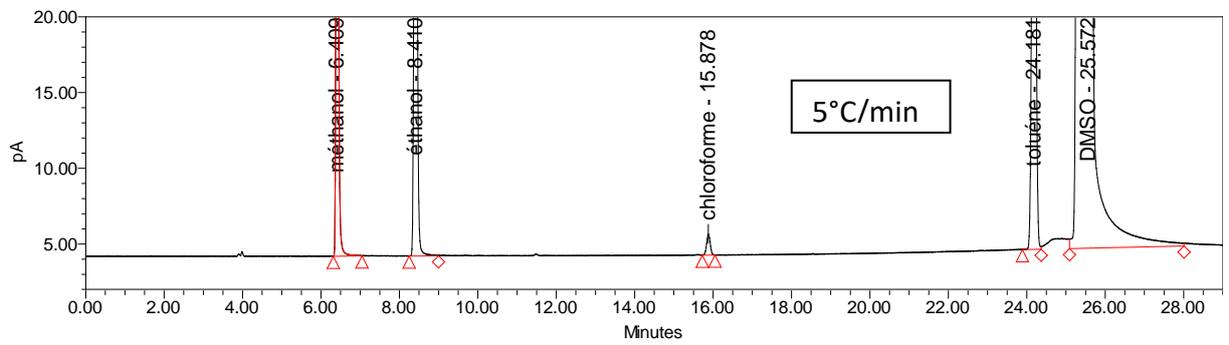
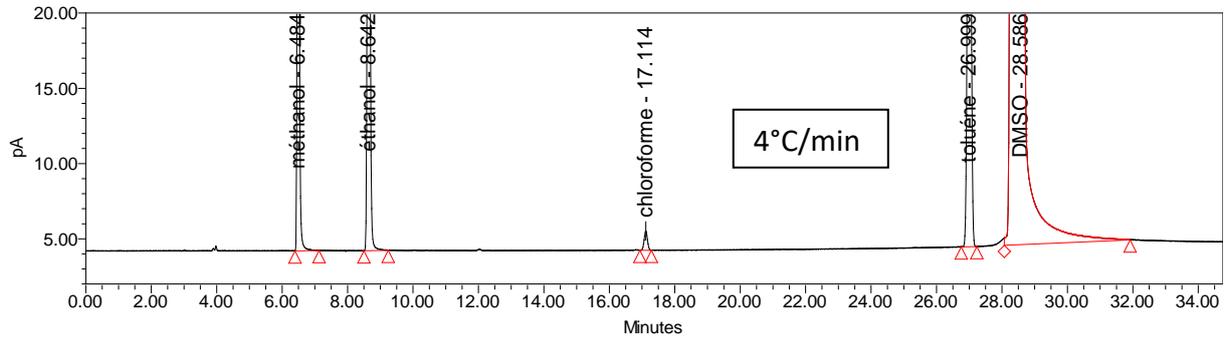
## Chromatogrammes associés



## Etude du gradient de température de la CPG

4°C/min	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,484	NA	102%
Ethanol	8,642	18,7	101%
Chloroforme	17,114	53,6	102%
Toluène	26,999	53,4	101%
DMSO	28,586	5,7	NA
5°C/min	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,409	NA	NA
Ethanol	8,410	18,1	NA
Chloroforme	15,878	51,5	NA
Toluène	24,181	49,6	NA
DMSO	20,174	5,4	NA
6°C/min	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,342	NA	99%
Ethanol	8,215	17,6	99%
Chloroforme	14,93	49,3	99%
Toluène	22,25	45,1	109%
DMSO	23,54	NA	NA

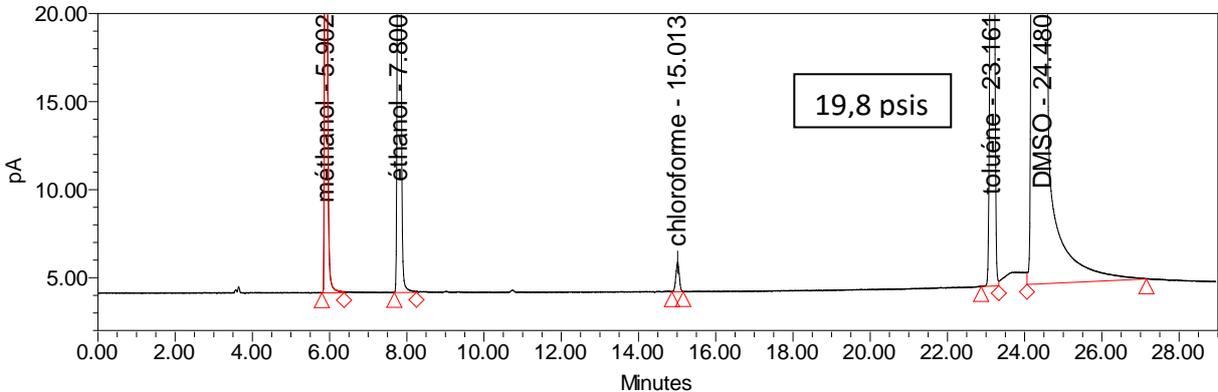
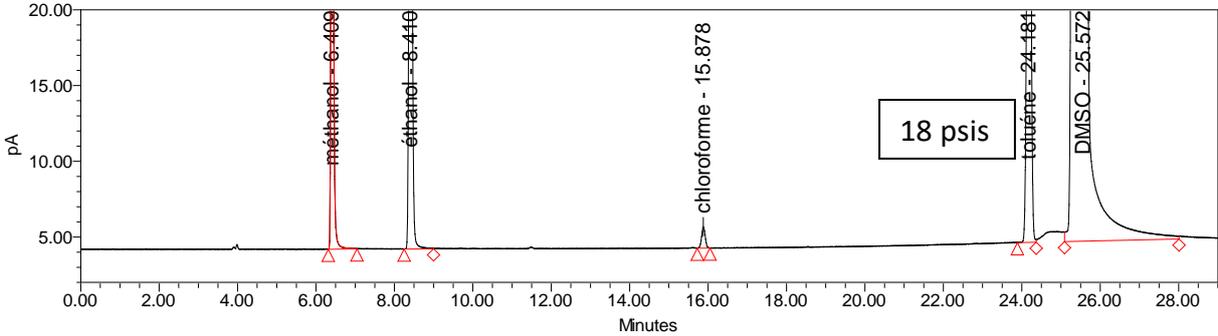
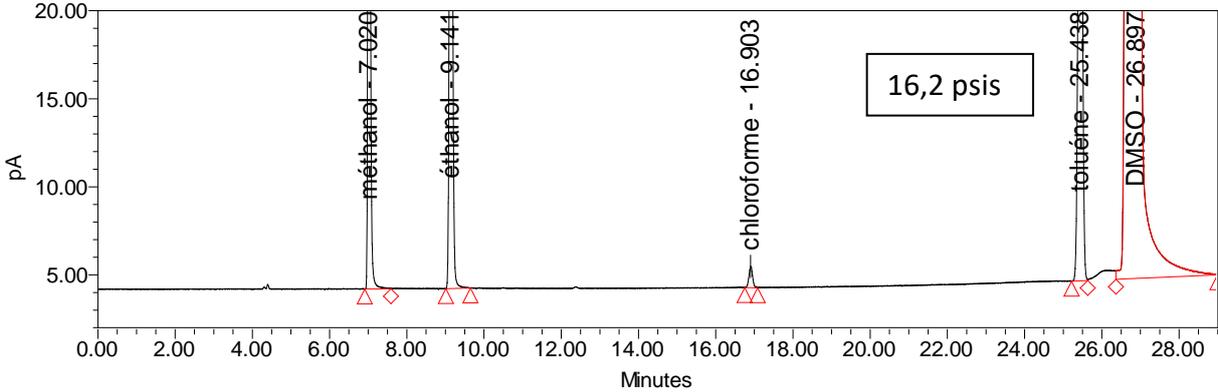
# Chromatogrammes associés



## Etude de la pression

16,2 psis (80% de la méthode de routine)	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	7,020	NA	88%
Ethanol	9,141	18,3	88%
Chloroforme	16,903	51,4	90%
Toluène	25,438	47,8	88%
DMSO	26,897	5,4	NA
18 psis	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,409	NA	NA
Ethanol	8,410	18,1	NA
Chloroforme	15,878	51,5	NA
Toluène	24,181	49,6	NA
DMSO	20,174	5,4	NA
19,8 psis (120% de la méthode de routine)	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	5,902	NA	117%
Ethanol	7,800	17,8	117%
Chloroforme	15,013	50,8	116%
Toluène	23,161	50,3	117%
DMSO	24,480	5,3	NA

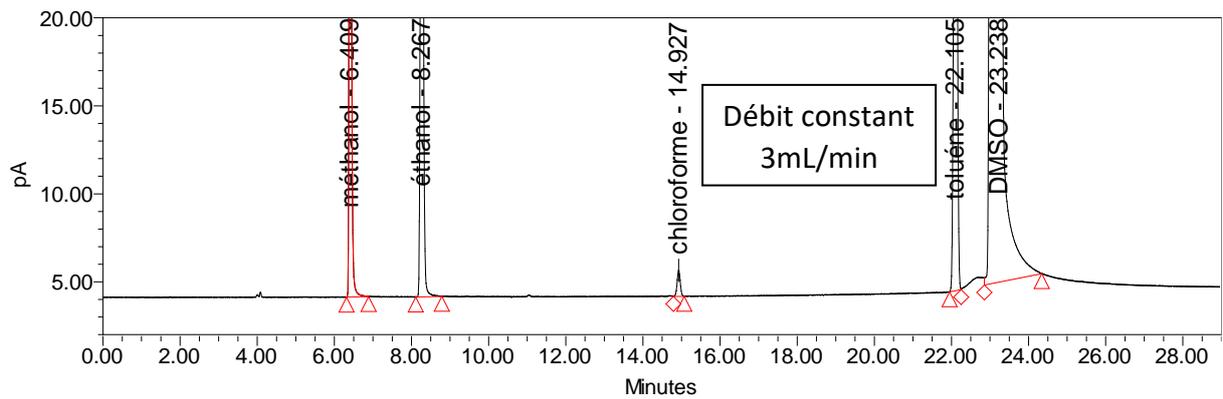
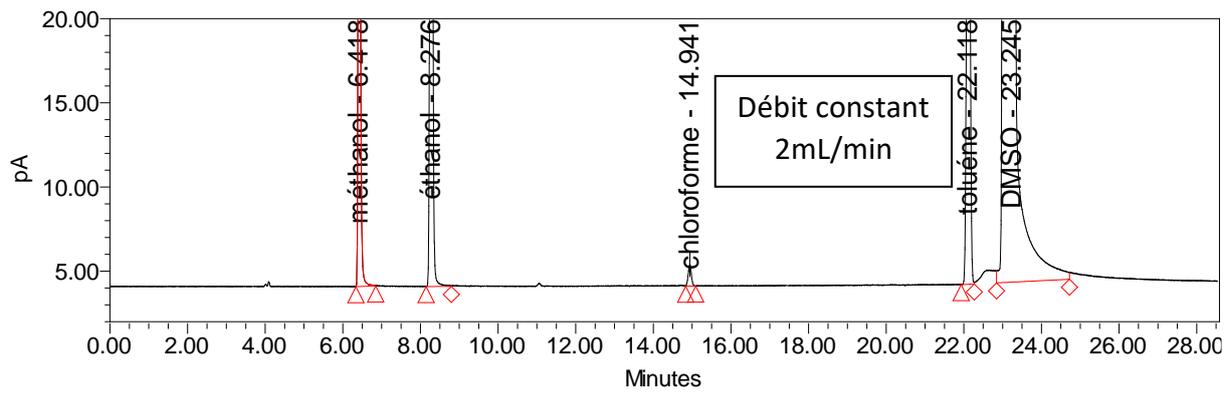
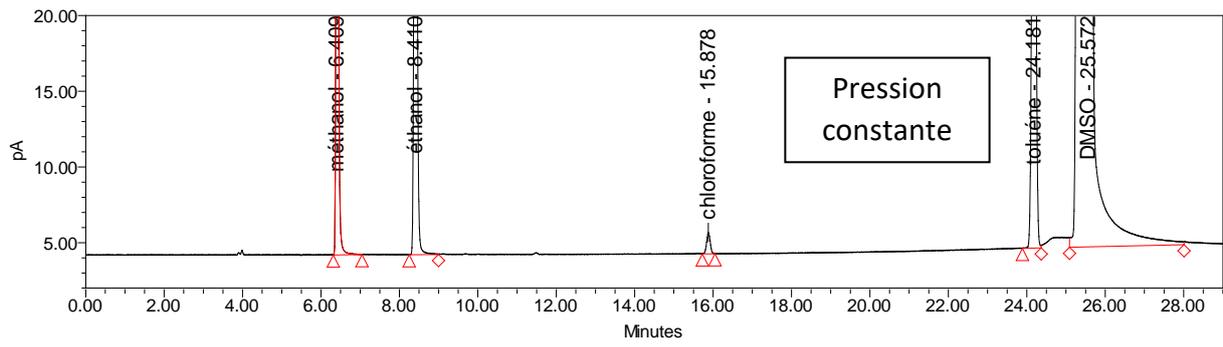
Chromatogrammes associés



## Essais comparatifs pression constante versus débit constant

Pression constante (méthode de routine)	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,409	NA	NA
Ethanol	8,410	18,1	NA
Chloroforme	15,878	51,5	NA
Toluène	24,181	49,6	NA
DMSO	20,174	5,4	NA
Débit constant (2mL/min)	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,418	NA	81%
Ethanol	8,276	18,1	86%
Chloroforme	14,941	50,6	86%
Toluène	22,118	49,2	81%
DMSO	23,245	5,5	NA
Débit constant (3mL/min)	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,409	NA	95%
Ethanol	8,267	18,2	95%
Chloroforme	14,927	50,8	94%
Toluène	22,105	49,4	93%
DMSO	23,238	NA	NA

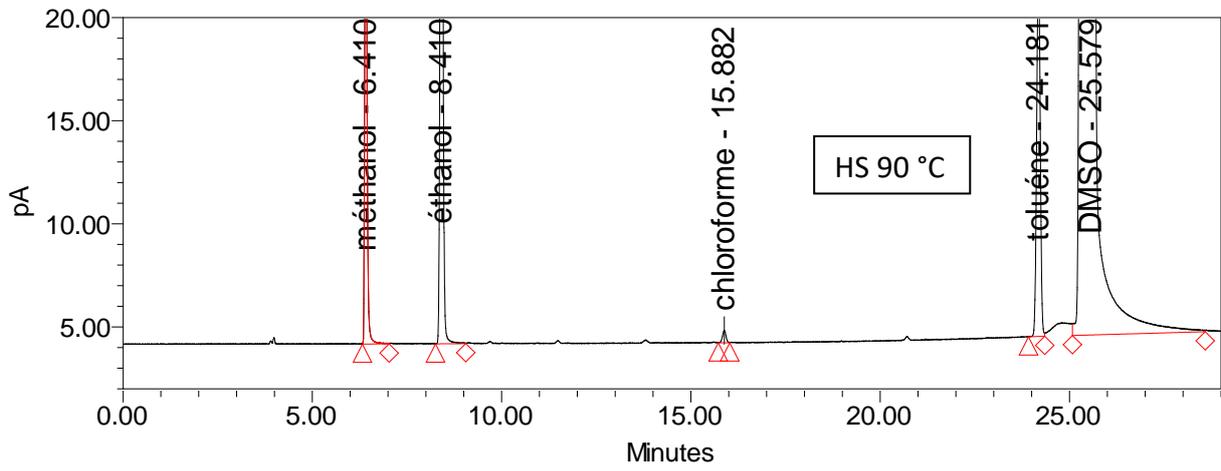
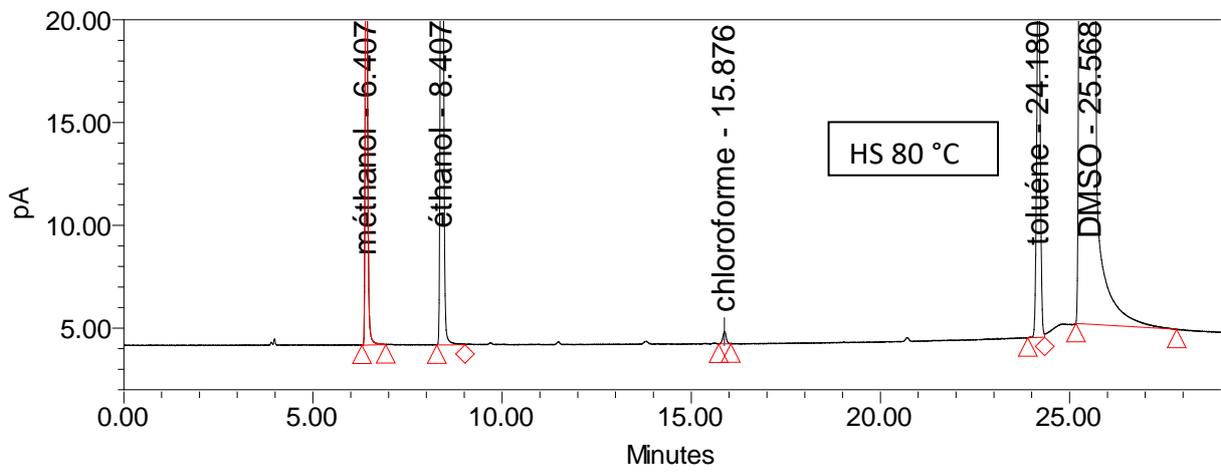
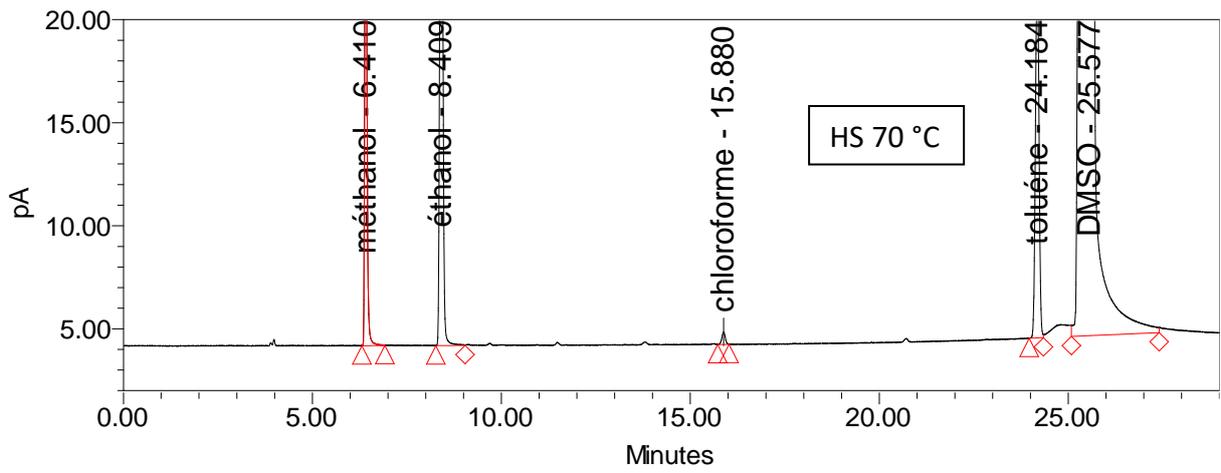
## Chromatogrammes associés



## Etude de la température de l'espace de tête

70 °C	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,410	NA	108 %
Ethanol	8,409	18,0	106 %
Chloroforme	15,880	51,4	109 %
Toluène	24,184	49,5	109%
DMSO	25,577	NA	NA
80 °C	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,407	NA	NA
Ethanol	8,407	18,1	NA
Chloroforme	15,876	51,5	NA
Toluène	24,180	49,6	NA
DMSO	25,568	NA	NA
90 °C	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,410	NA	104%
Ethanol	8,410	18,0	103%
Chloroforme	15,882	50,8	103%
Toluène	24,181	49,0	103%
DMSO	25,579	53,7	NA

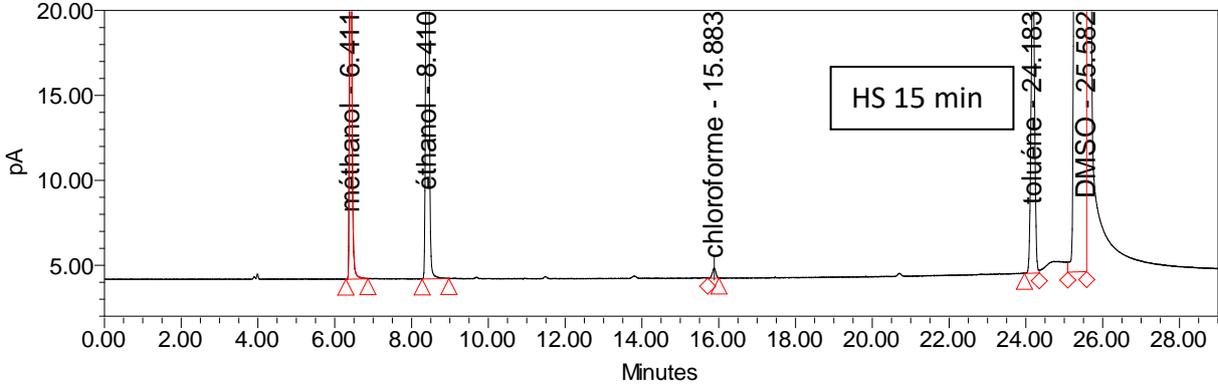
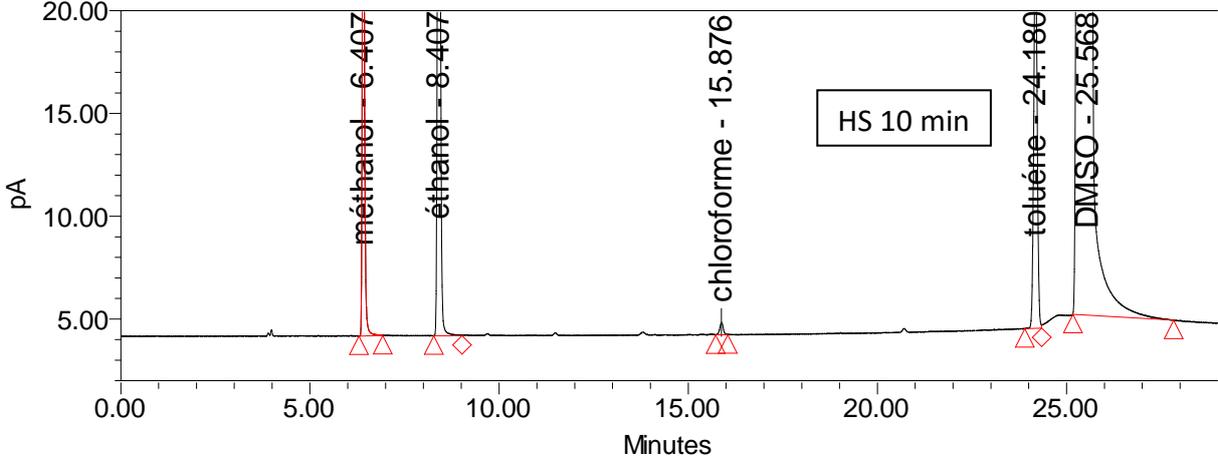
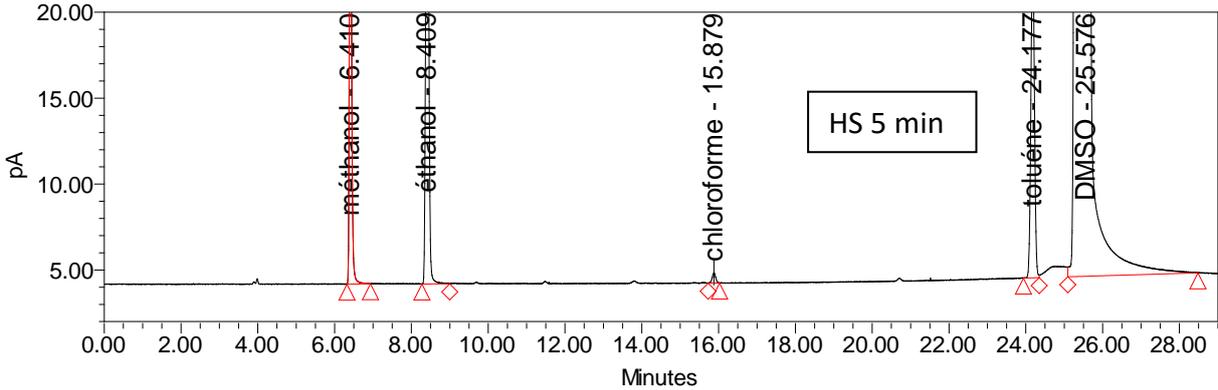
### Chromatogrammes associés



## Temps d'agitation de l'espace de tête

5 min	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,410	NA	108
Ethanol	8,409	18,0	105
Chloroforme	15,879	51,2	108
Toluène	24,177	49,4	109
DMSO	25,576	53,6	NA
10 min	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,407	NA	NA
Ethanol	8,407	18,1	NA
Chloroforme	15,876	51,5	NA
Toluène	24,180	49,6	NA
DMSO	25,568	NA	NA
15 min	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,411	NA	105
Ethanol	8,410	216,7	103
Chloroforme	15,883	51,6	103
Toluène	24,183	49,6	104
DMSO	25,582	NA	NA

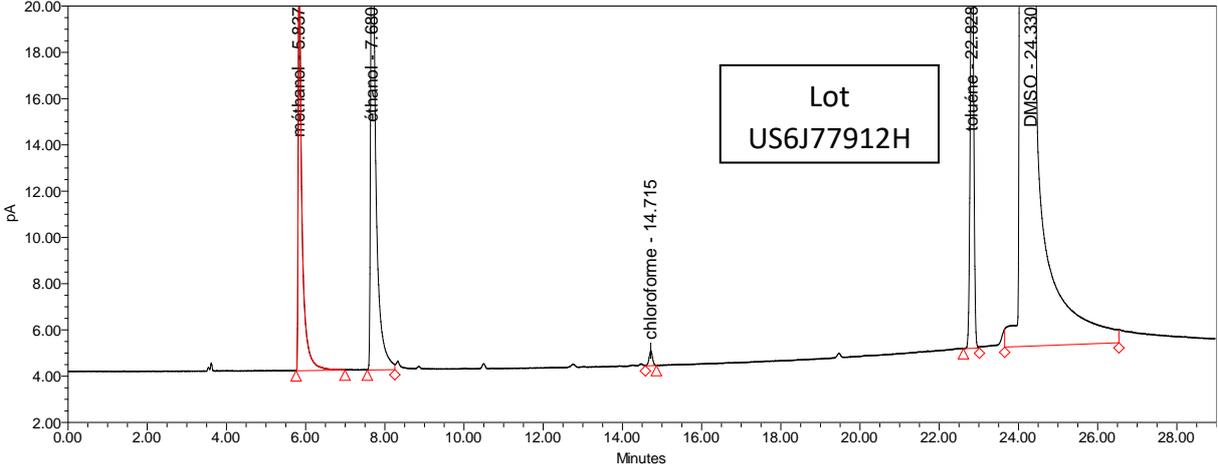
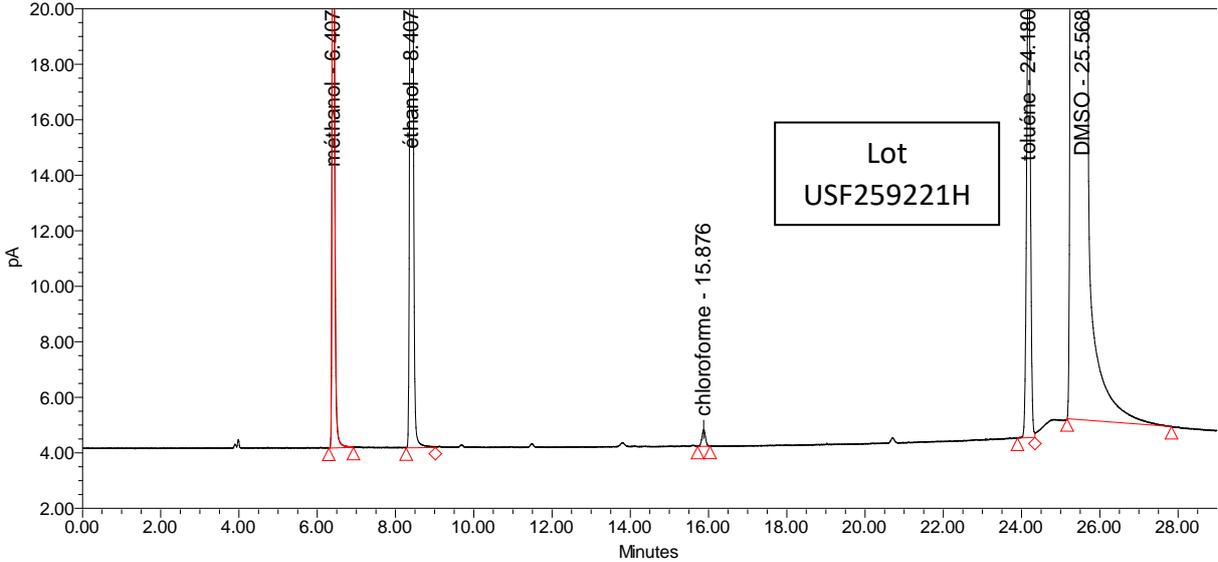
Chromatogrammes associés



Lots de colonne

Lot USF259221H	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	6,407	NA	NA
Ethanol	8,407	18,1	NA
Chloroforme	15,876	51,5	NA
Toluène	24,180	49,6	NA
DMSO	25,568	NA	NA
Lot US6J77912H	Temps de rétention (min)	Résolution	Taux de recouvrement
Méthanol	5,837	NA	106%
Ethanol	7,680	12,7	105%
Chloroforme	14,715	44,6	117%
Toluène	22,828	52,8	109%
DMSO	24,330	6,1	NA

Chromatogrammes associés



## Bibliographie

1. Code de la santé publique (article L.5111-1) [Internet]. 2007 [cité 22 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?idArticle=LEGIARTI000006689867&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20070227>
2. International Organization for Standardization. ISO/IEC 17025 : General requirements for the competence of testing and calibration laboratories : Chapter : test and calibration methods and method validation. 2017.
3. EudraLex. GMP : EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use Volume 4 annex 15 : qualification and validation. 30 mars 2015;
4. International Conference of Harmonisation. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology [Internet]. 1996 [cité 14 mars 2019]. Disponible sur: <https://www.ich.org/products/guidelines/quality/quality-single/article/analytical-procedure-development-and-revision-of-q2r1-analytical-validation-copy-1.html>
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolution of collegiate board – RDC # 166 : Chapter 2 : GENERAL PROVISIONS. 24 juill 2017;
6. International Conference of Harmonisation. Final Concept Paper ICH Q14: Analytical Procedure Development and Revision of Q2(R1) Analytical Validation. 14 nov 2018 [cité 22 avr 2019]; Disponible sur: [https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q2\\_Q14/Q2R2Q14EWG\\_ConceptPaper\\_2018\\_1115.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_Q14/Q2R2Q14EWG_ConceptPaper_2018_1115.pdf)
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Página Inicial da Anvisa [Internet]. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: <http://portal.anvisa.gov.br/>
8. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Résolution - RE n°899 - Guide pour les validations des méthodes analytiques et bioanalytiques. 05/2003.
9. Commission SFSTP, J. Caporal-Gautier; J.M. Nivet; P. Algranti; M. Guilloteau; M. Histe; M.Lallier; J.J. N'Guyen-Huu et R. Russotto. Guide de validation analytique, I methodologie. 1992;
10. Commission SFSTP, Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, P.A. Compagnon, W. Dewe, M. Feinberg,, M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, G. Muzard, C. Nivet, L. Valat. Guide\_SFSTP\_2003\_Validation des procédures analytiques quantitatives. 2003;
11. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), Guidance for Industry. Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry. juill 2015;

12. Center for Drug Evaluation, and Research (CDER). Reviewer Guidance' Validation of Chromatographic Methods. 1994;
13. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Qu'est-ce que la Pharmacopée ? [Internet]. [cité 2 févr 2019]. Disponible sur: [https://www.ansm.sante.fr/Activites/Pharmacopee/Qu-est-ce-que-la-Pharmacopee/\(offset\)/0](https://www.ansm.sante.fr/Activites/Pharmacopee/Qu-est-ce-que-la-Pharmacopee/(offset)/0)
14. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & soins de santé. Pharmacopée européenne 9ème édition chapitre 1 : Prescriptions générales.
15. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency. Japanese Pharmacopeia XVII, General Notices.
16. Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du travail. Guide de validation des méthodes d'analyses [Internet]. 2015 [cité 22 avr 2019]. Disponible sur: [https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES\\_GuideValidation.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_GuideValidation.pdf)
17. Goupy J, Creighton L. Introduction to Design of Experiments with JMP Examples Third Edition. 2007.
18. Pinguet I. Validation analytique : application de la procédure SFSTP 2003-2006 au domaine de la phytothérapie [Internet]. 2015 [cité 11 févr 2018]. Disponible sur: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01188779/document>
19. J. Vessman. Selectivity or specificity? Validation of analytical methods from the perspective of an analytical chemist in the pharmaceutical industry. 1996;
20. Soumia Belouafa, Fatima Habti, Saïd Benhar, Bouchaïb Belafkih, Souad Tayane, Souad Hamdouch,, Ahmed Bennamara, and Abdelmjid Abourriche. Statistical tools and approaches to validate analytical methods: methodology and practical examples. 26 déc 2016;
21. Kalra K. Method Development and Validation of Analytical Procedures. In: Shoyama Y, éditeur. Quality Control of Herbal Medicines and Related Areas [Internet]. InTech; 2011 [cité 19 janv 2019]. Disponible sur: <http://www.intechopen.com/books/quality-control-of-herbal-medicines-and-related-areas/method-development-and-validation-of-analytical-procedures>
22. Procédure interne. Validation de méthodes analytiques pour le dosage et la teneur en substances apparentées par chromatographie. 2017;
23. Joachim Ermer, John H. McB. Miller. Method Validation in Pharmaceutical Analysis A Guide to Best Practice. 2005.
24. M. Pinta ; C. Riandey. Les effets de matrice sur le dosage des traces par absorption atomique. 1970;
25. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain et vétérinaire : Annexe 15 : Qualification et validation. 18 août 2015;

26. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry Investigating Out-of-Specification (OOS) Test Results for Pharmaceutical Production. oct 2006;
27. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain et vétérinaire : Glossaire. 2019.
28. Procédure interne. Gestion et qualification des substances de références. 2018.
29. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & soins de santé. Pharmacopée européenne 9ème édition partie 5.4 (Solvants résiduels).
30. Monographie interne du produit 4. avr 2018;

## SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

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

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

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

**Title**

---

Analytical Validation System Review: application on the active substances of a manufacturer site of pharmaceutical raw materials

**Abstract**

---

Quality Control is a key area of the pharmaceutical industry which contribute to ensure the quality, the security and the efficacy of the medicines put on the market as part of a larger system of quality assurance.

Analytical methods are the basic element of this area which make it possible to carry out such checks. Analytical validations ensure that these methods meet the requirements of their usual daily routine. They fit in a much-regulated context.

This regulation and the technologies evolving, it becomes necessary for industries to fit into a more in-depth assessment of the analytical validations with the periodic evaluation of this validations.

Currently, these validations are not regulated. It is therefore appropriate for the company to put them in place with their own goals, the regulation of the analytical validations and their internal procedures.

The first part of this document attempts to recontextualize the role of the analytical validations in the pharmaceutical industry, their essential regulatory prerequisite and to present tools to implement an effective review on an industrial site, the presentation of the methodology for an individual review and an example of an associated action plan.

**Discipline**

---

Pharmacy

**Keywords**

---

Analytical Validation, Validation Review, Quality Control, Analytical Development, Quality Assurance, Pharmaceutical Industry

---

## Titre

---

Systeme de revue des validations de methodes analytiques :  
Application aux substances actives d'un site fabricant de matieres premieres a usage  
pharmaceutique

## Résumé

---

Le contrôle qualité est un domaine indispensable des industries pharmaceutiques qui contribue à assurer la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments mis sur le marché en s'inscrivant dans un système plus global d'assurance qualité.

Les méthodes analytiques sont l'élément de base de ce domaine et permettent d'effectuer ces contrôles. Les validations analytiques permettent d'assurer que ces méthodes répondent correctement à leur attendu en routine. Elles s'inscrivent dans un contexte réglementaire très encadré.

Cette réglementation et les technologies évoluant, il devient nécessaire pour les industriels d'entrer dans une appréciation plus approfondie des validations analytiques par l'évaluation périodique de ces validations (revue des validations) .

Actuellement, ces revues ne sont pas réglementées. Il convient par conséquent à l'industriel de les mettre en place en adéquation avec ses objectifs, la réglementation des validations analytiques et ses procédures internes.

Ce document a pour objectif dans une première partie de recontextualiser la place des validations analytiques dans l'industrie pharmaceutique, ses prérequis réglementaires et de présenter les outils pour mettre en place une revue efficace sur un site.

La seconde partie se veut être une présentation concrète d'un cas d'étude avec un exemple de mise en place d'une revue sur un site, la présentation de la méthodologie pour une revue individuelle et un exemple de plan associé.

## Discipline

---

Pharmacie

## Mots clés

---

Validation analytique, Revue de validation, Contrôle qualité, Développement analytique, Assurance qualité, Industrie pharmaceutique

## Adresse du laboratoire

---

Laboratoire de Chimie Analytique  
Université de Bordeaux - U.F.R des Sciences Pharmaceutique  
146 rue Léo Saignat  
33076 Bordeaux CEDEX