

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB_ BLIDA

FACULTÉ DE MEDECINE BLIDA

DEPARTEMENT DE PHARMACIE



Mémoire de Fin d'Etude

Pour l'obtention du diplôme

DOCTEUR EN PHARMACIE

Impuretés inorganique dans les produits pharmaceutiques ;

Aspects techniques et réglementaires

Réalisé Par :

-FEKIRI SARRA

-BENZID MANEL

-RABAHI IMANE

Encadré par : Dr. IMOUDACHE. H .MAITRE ASSISTANT EN CHIMIE MINERALE

Devant le jury composé -Président : **Dr.BouhekchouK**

-Examineur 1:**Dr.Blaidi**

-Examineur 2 :**Dr.Azzouz**

Année universitaire : 2020 /2021

Dédicace

*Je tiens tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la santé,*

La volonté, le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

*Je dédie entièrement ce travail à **mes chers parents**, mes piliers, mes premiers supporteurs et ma plus grande force .Merci pour votre présence, votre aide, votre soutien et surtout votre amour.*

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous .je vous aime trop.

*A mes sœurs **Fatima et Souad** pour leur complicité, leur présence, et leur soutien durant mon cursus, merci pour l'aide que vous m'avez apporté. Puissent nos liens se consolider encore plus.*

*A ma moitié, ma complice, ma sœur **Mimi et son mari** ; pour leur amour, leur conseils ainsi leur soutien inconditionnel, merci pour m'avoir encouragée et épaulée durant toutes ces années. Que dieu vous garde pour nous et pour vos petits enfants **Adem et Mimou**.*

A mes frères et tous mes neveux et nièces.

*A mes meilleures amies que je les aime trop surtout **Nawal et Rokaya**, trop chanceuse de vous avoir dans ma vie, je vais jamais oublier nos souvenirs, nos moments de fou rire ,de tristesse que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.*

*En fin je tiens à remercier toute personne qui m'a aidé et m'encouragé de près ou de loin durant mon cursus. Spéciale dédicace à monsieur **Taouinar** pour tes encouragements ,merci pour tout.*

IMANE

Je dédie ce modeste travail à mes chères parents ma source de bonheur qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études.sans eux je n'aurais certainement pas arrivé ici.

A ma petite famille qui m'avez toujours soutenu et encouragé.

A tous mes amis qui ont partagé avec moi tous les moments de joie et de faiblesse au cours de ma carrière universitaire.

A mes binômes IMANE et SARRA qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.

A tous ceux qui m'ont aide par un mot ; par un conseil ; par un sourire ; quand j'en avais besoin.

A chaque enseignant était gentil avec nous et qui nous a donné son mieux.

MANEL

A mes parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand respect, et ma reconnaissance pour l'amour et la confiance inconditionnelle que vous m'avez portés, et les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation. Sans votre soutien rien n'aurait été possible. J'implore dieu le tout puissant de vous accorder bonne santé et longueur vie. Je vous aime.

A ma famille

Pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, j'adresse un immense « merci ».

A mes amis

Merci pour les moments que nous avons passés ensemble tout au long de ces années, ainsi que pour tous ceux restant à venir.

Merci d'être toujours là pour moi.

SARRA

Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la sante et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*On tient à remercier, très sincèrement, notre promoteur **Dr IMOUDACHE Hicham** maitre-assistant en chimie minérale Pour son aide, sa disponibilité, ses conseils constructives, ses encouragements, durant notre préparation de ce mémoire. On a eu l'honneur et la chance de bénéficier de ces connaissances et compétences, de ses précieux conseils.*

On remercie l'ensemble Dr BOUCHEKCHOUK. .Dr BLAIDI. DrAZZOUZ. pour d'avoir accepté de juger ce travail.

On adresse également des remerciements à tous les enseignants de notre cursus universitaire qui ont contribué à notre formation.

De peur d'en avoir oublier, on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi que a la réussite de ce parcours universitaire.

Table des matières :

Introduction.....	01
CHAPITRE I : Réglementation	
1. Définition de l'ICH	04
2. Les différentes normes ICH.....	04
3. La nécessité d'établir une ligne directrice harmonisée pour les impuretés métalliques.....	07
3.1. Un besoin de santé publique.....	07
3.2. Le besoin d'une guideline spécifique	09
3.3. CHMP guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents	09
4. Le champ d'application D'ICH Q3D.....	10
5. Objectifs de l'ICH.....	11
6. Méthode pour établir des limites d'exposition.....	11
6.1. Définition de l'EJA	11
6.2. méthode proprement dite.....	12
6.3. Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) des impuretés élémentaires de la directive Q3D de l'ICH	14
7. Conversion de la PDE en concentration maximale admissible " maximum permitted concentration	15
7.1. Option 1 : calcul la concentration maximale admissible dans les composants des produits pharmaceutiques dont la dose journalière est inférieure ou égale à 10 grammes	16
7.2. Option 2a : Calcul la Concentration Maximale Admissible commune pour les composants d'un produit pharmaceutique dont la dose journalière est définie.....	18

7.3. Option 2b : Calcul des Concentrations Maximales Admissibles pour des composants dont la proportion dans les produits pharmaceutiques est considérée.....	21
---	----

7.4. Option 3 : analyse du produit fini.....	23
--	----

8. Impuretés Élémentaires à considérer lors de l'analyse de risque	25
--	----

9. Analyse de risque	25
----------------------------	----

9.1. Résultats de l'Analyse de risque	26
---	----

9.2. Méthodes d'analyse.....	27
------------------------------	----

CHAPITRE II : Toxicité des impuretés élémentaires

1. Introduction.....	28
----------------------	----

2. Définition des impuretés élémentaires.....	28
---	----

3. Classification des Impuretés Élémentaires selon ICH Q3D	29
--	----

4. Classification des impuretés élémentaires de l'EMA.....	31
--	----

5. Sources potentielles des impuretés élémentaires	32
--	----

5.1. Impuretés élémentaires potentielles dérivées de catalyseurs et de réactifs inorganiques intentionnellement ajoutés	32
---	----

5.2. Impuretés élémentaires potentielles qui peuvent être présentes dans les substances pharmaceutiques ou les excipients	33
---	----

5.3. Impuretés élémentaires potentielles dérivées de l'équipement de fabrication.....	33
---	----

5.4. Impuretés élémentaires infiltrées en provenance du contenant et du dispositif de fermeture.....	33
--	----

6. Toxicité des impuretés élémentaires	35
--	----

6.1. Définition de quelques termes scientifiques relatifs à la toxicité.....	35
--	----

6.2. Toxicité des éléments.....	35
---------------------------------	----

CHAPITRE III : Contrôle des impuretés élémentaires

1. Introduction.....	45
----------------------	----

2. Le test des « Métaux Lourds »	45
--	----

2.1. Principe général	45
-----------------------------	----

2.2. Limites	46
--------------------	----

3. Les méthodes dosage analytiques.....	47
3.1. Préparation de l'échantillon	47
3.1.1. Digestion par voie sèche.....	48
3.1.2. Digestion par voie humide.....	48
3.2. Spectroscopie d'absorption atomique	49
3.2.1. Introduction	49
3.2.2. Principe.....	49
3.2.3. Appareillage.....	49
3.2.4. Dosage	53
3.2.5. Interférences	53
3.2.6. Avantages	55
3.2.7. Limitations.....	55
3.3. Méthodes analytiques instrumentales basées sur l'ICP	55
3.3.1. Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES).....	57
3.3.1.1. Appareillage.....	58
3.3.1.2. Principe	60
3.3.1.3. Avantages	61
3.3.1.4. Interférences	61
3.3.2. Spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)	62
3.3.2.1. Appareillage.....	64
3.3.2.2. Principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse quadripolaire à plasma à couplage inductif	64
3.3.2.3. Avantages	66
3.3.2.4. Interférences	66
4. Validation de la méthode.....	67
4.1. Spécificité.....	67
4.2. Fonction de réponse.....	68

4.3. Justesse.....	68
4.4. Fidélité.....	69
4.5. La limite de détection (LD) et de quantification (LQ).....	70
4.6. Profil d'exactitude.....	70
4.7. Calcul de l'intervalle de tolérance.....	70
4.8. Profil d'exactitude et décision.....	71
4.9. Choix de protocole de validation.....	72

PARTIE RATIQUE

1. Première partie : analyse des impuretés élémentaires dans le chlorhydrate de methadone	91
1.1. Introduction.....	91
1.2. Matériaux et méthodes.....	92
1.3. Résultats et discussion.....	94
1.4. Validation.....	95
1.5. Conclusions.....	98
2. Deuxième partie : analyse des impuretés élémentaires dans les préparations Pédiatriques de carbonate de calcium.....	99
2.1. Introduction.....	99
2.2. Matériaux et méthodes.....	100
2.3. Résultats et discussion.....	102
2.4. Conclusions.....	109
CONCLUSION générale	110

Liste des figures :

Figure 1: Différents métaux lourds de préoccupation pharmaceutique.....	02
Figure 2 : Classification des impuretés élémentaires selon l'ICH	31
Figure 3 : Classification des impuretés élémentaires selon EMEA.....	32
Figure 4 : Sources des impuretés élémentaires au cours de processus de fabrication des médicaments et des produits pharmaceutiques.....	35
Figure 5 : Lampe a cathode creuse.....	50
Figure 6 : Equipement de l'absorption atomique.....	51
Figure 7 : SAA de flamme	52
Figure 8 : SAA de four.....	53
Figure 9 : Schéma simplifié d'un système de génération d'un plasma à couplage inductif.....	57
Figure 10 : Instrumentation de l'ICP-AES.....	59
Figure 11 : Schéma de l'appareillage d'un ICP-AES.....	59
Figure 12 : Schéma de l'appareillage d'un spectromètre de masse quadripolaire couplé à l'ICP.....	63
Figure 13 : Schéma de l'appareillage d'un spectromètre de masse à secteur magnétique.....	63
Figure 14 : Schéma du principe de fonctionnement de l'ICP-MS quadripolaire.....	65
Figure 15 : Logigramme permettant de sélectionner un protocole de validation.....	73
Figure 16 : Courbes d'étalonnage du premier jour.....	75
Figure 17 : Courbes d'étalonnage du deuxième jour.....	76
Figure 18 : Courbes d'étalonnage du troisième jour.....	77

Figure 19 : Courbe des résultats obtenus durant les trois jours.....	78
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (1er jour).....	82
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (2ème jour).....	84
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (3ème jour).....	85
Figure 23 : Profil d'exactitude de la méthode de dosage de la cuprurie par SAA flamme.....	90
Figure 24 : Histogramme des impuretés élémentaires du carbonate de calcium léger (fabricant I, sept lots) et du carbonate de calcium broyé (fabricant V, quatre lots)(Les impuretés élémentaires non détectées dans le calcium léger et le calcium lourd ne sont pas répertoriées).....	105
Figure 25 : Histogramme de l'impureté élémentaire du carbonate de calcium léger (fabricant I ~ fabricant IV) (Les impuretés élémentaires non détectées dans le calcium léger ne sont pas répertoriées).....	107

Liste des tableaux :

Tableau1 : Expositions journalières admissibles pour les impuretés élémentaires.....	15
Tableau 2 : Doses journalière de chaque composant.....	16
Tableau3 : Impuretés élémentaires et leur PDE-Exemple-option1.....	17
Tableau 4 : Calcul de la concentration maximale selon l'option 01.....	17
Tableau 5 : Calcul de la Prise Journalière potentielle maximale.....	18
Tableau 6 : Impuretés élémentaires et leurs PDE-Exemple-option 2a.....	19
Tableau 7 : Calcul de la concentration maximale selon l'option 2a.....	19
Tableau 8 : Calcul de la Prise Journalière potentielle maximale.....	20
Tableau 9 : Concentrations des IE dans les composants du médicament	22
Tableau10 : Calcul de la prise journalière totale d'IE dans le médicament	23
Tableau 11 : Calcule de la concentration maximale admissible	24
Tableau 12 : Calcul de la Prise Journalière Maximale en impuretés élémentaires.....	24
Tableau 13 : Éléments à prendre en compte dans l'évaluation des risques.....	25
Tableau 14 : <i>Comparaison entre atomisation par flamme et atomisation par four</i>	54
Tableau 15 : Exemples de fonction de réponses.....	68
Tableau 16 : Choix du nombre de standards d'étalonnage et de validation en fonction du protocole choisi (SFSTP 2006).....	74
Tableau 17 : Résultats des gammes d'étalonnage du J1.....	75
Tableau 18 : Résultats des gammes d'étalonnage du J2.....	76
Tableau 19 : Résultats des gammes d'étalonnage du J3.....	77
Tableau 20 : Moyennes des résultats des trois jours.....	78

Tableau 21 : Valeurs de la pente et des ordonnées à l'origine obtenu par les courbes moyenne.....	78
Tableau 22 : Comparaison des ordonnées à l'origine b1 et b2.....	79
Tableau 23 : Comparaison des pentes a1 et a2.....	79
Tableau 24 : Gamme d'étalonnage de la solution du cuivre dans la matrice (1er jour).....	81
Tableau 25 : Résultats de la gamme de standard de validation.....	82
Tableau 26 : Gamme d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (2ème jour).....	83
Tableau 27 : Résultats de la gamme de standard de validation (2ème jour).....	84
Tableau 28 : Gamme d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (3ème jour).....	84
Tableau 29 : Résultat de la gamme de standard de validation (3ème jour).....	85
Tableau 30 : Absorbances d'une série de six blancs d'analyse.....	86
Tableau 31 : Concentrations calculées des standards de validation.....	87
Tableau 32 : Résultats de la justesse des standards de validations.....	88
Tableau 33 : Mesure des coefficients de variation intra et inter groupe.....	89
Tableau 34 : Tableau suivant est un récapitulatif pour les paramètres qui servent à l'établissement du profil d'exactitude de notre méthode de dosage.et les limites supérieur et inférieur	89
Tableau 35 : Niveaux de concentration (mg/l) des standards d'étalonnage des IE de classe 1 et de classe 2a étudiées.....	93
Tableau 36 : Paramètres typiques des instruments Agilent 5100 ICP-OES et Agilent 7500cx ICP-MS.....	94
Tableau 37 : Limites de concentration maximales autorisées pour les éléments sélectionnés dans le chlorhydrate de méthadone 1 mg/ml en solution orale.....	95
Tableau 38 : coefficients de corrélation.....	96
Tableau 39 : Résultats de la précision de la méthode.....	96
Tableau 40 : Récupération des pointes pour les impuretés élémentaires étudiées de classe 1 et de classe 2a.....	97
Tableau 41 : LOD et LOQ des IE étudiés des classes 1 et 2a.....	97

Tableau 42 : Détermination de l'arsenic et du plomb par les méthodes ICP-OES et ICP-MS.....	98
Tableau 43 : les paramètres expérimentaux de ICP-MS.....	102
Tableau 44 : Précision (récupération moyenne du pic%), répétabilité et précision intermédiaire (comme RSD%).....	103
Tableau45 : table de Student.....	81

Liste d'abréviation:

IARC: International Agency for Research on Cancer.

EJA : Exposition journalière admissible (en anglais **PDE :** Permitted Daily Exposure)

EMEA ou EMA : European Medicines Agency (en français, Agence Européenne d'Évaluation du Médicament).

FDA : Food and Drug Administration (en français, Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux).

ICH : The International Council of Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (en français, Conseil international d'harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement des médicaments à usage humain).

ICP : Inductively Coupled Plasma ou Plasma par couplage inductif.

LdD : limite de détection.

ICP-AES : Spectrométrie d'émission Atomique à Plasma à Couplage Inductif.

ICP-MS : Spectroscopie de Masse à Plasma à Couplage Inductif.

SAA : Spectrométrie d'Absorption Atomique.

FSAA ; Spectrométrie d'absorption atomique avec flamme.

Ph. Eur. : Pharmacopée Européenne

USP : United States Pharmacopoeia (en français, Pharmacopée américaine)

PPM : Partie par million (10⁻⁶)

PA : principe active

SFSTP : société Française des sciences et techniques pharmaceutiques

SE : standard d'étalonnage

SV : standard de validation.

Introduction :

L'utilisation des médicaments peut avoir des conséquences graves en terme de santé publique et de sécurité, c'est la raison pour laquelle les conditions de commercialisation des médicaments diffèrent considérablement de celles des autres biens de consommation.

L'une des principales caractéristiques qui distingue les médicaments des autres produits de consommation en matière de sécurité est l'exigence d'une autorisation de mise sur le marché et d'un enregistrement préalable. Avant qu'un médicament ne puisse être introduit sur un marché, il doit être évalué et approuvé par les autorités sanitaires. Il s'agit d'ailleurs d'un principe bien établi dans le monde entier.

On entend par médicament, toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives et préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques.

Le médicament est donc un produit de consommation particulier, il a vocation de santé publique et un mode de financement spécifique. C'est un produit actif nécessaire à la santé mais qui peut comporter des risques.[1]

Alors, L'innocuité d'un médicament est déterminée par son profil pharmacologique et toxicologique, ainsi que par les effets indésirables émanant d'une part de la substance médicamenteuse et d'autre part des impuretés présentes dans la préparation médicamenteuse. Les impuretés contenues dans les médicaments présentent souvent des effets pharmacologiques et toxicologiques indésirables qui peuvent aller à l'encontre des effets bénéfiques attendus de l'administration du médicament. Ainsi, la surveillance et le contrôle des impuretés participent généralement à l'assurance de la qualité et de la sécurité d'un médicament. Les activités analytiques concernant les impuretés dans les produits pharmaceutiques font partie des exigences en matière de contrôle qualité des médicaments.

Parmi les impuretés rencontrées dans les produits pharmaceutiques, on a :

- Les impuretés organiques.
- Les impuretés inorganiques, minérales ou encore appelées impuretés élémentaires.
- Les solvants résiduels ou impuretés organiques volatils.

Ce qui nous intéresse dans notre thèse sont les impuretés élémentaires.

Dans le secteur pharmaceutique, le test des « Métaux Lourds » décrit aux Pharmacopées a permis pendant de nombreuses années le contrôle des métaux suivants : « plomb, cuivre, argent, mercure, cadmium, bismuth, ruthénium, or, platine, palladium, vanadium, arsenic, antimoine, étain et molybdène » Mais il s'avère, au fil du temps, que la recherche de métaux lourds dans les médicaments devient trop limitée, trop restrictive. Comme nous l'avons précédemment évoqué, certains éléments toxiques ne sont pas des métaux « lourds », ni même des « métaux » dans le sens chimique du terme.

La notion d'Impuretés Élémentaires présente cet avantage de couvrir un spectre d'éléments bien plus large que le seul spectre des métaux lourds. Elle comprend tous les éléments métalliques du tableau périodique susceptibles de se retrouver dans les médicaments et qui n'apportent aucun bienfait thérapeutique au patient. Donc les impuretés élémentaires sont des éléments chimiques, de la classe des métaux lourds et métalloïdes, métaux, ajoutés intentionnellement ou non dans le procédé de fabrication des médicaments et qui peuvent se retrouver dans le produit fini à des quantités supérieures au seuil de contrôle.

Ces éléments sont colorés en jaune dans le tableau périodique des éléments chimiques de la figure 1.

Periodic Table Of Elements																	
1 H Hydrogen																	2 He Helium
3 Li Lithium	4 Be Beryllium											5 B Boron	6 C Carbon	7 N Nitrogen	8 O Oxygen	9 F Fluorine	10 Ne Neon
11 Na Sodium	12 Mg Magnesium											13 Al Aluminum	14 Si Silicon	15 P Phosphorus	16 S Sulfur	17 Cl Chlorine	18 Ar Argon
19 K Potassium	20 Ca Calcium	21 Sc Scandium	22 Ti Titanium	23 V Vanadium	24 Cr Chromium	25 Mn Manganese	26 Fe Iron	27 Co Cobalt	28 Ni Nickel	29 Cu Copper	30 Zn Zinc	31 Ga Gallium	32 Ge Germanium	33 As Arsenic	34 Se Selenium	35 Br Bromine	36 Kr Krypton
37 Rb Rubidium	38 Sr Strontium	39 Y 88,906 Yttrium	40 Zr Zirconium	41 Nb Niobium	42 Mo Molybdenum	43 Tc Technetium	44 Ru Ruthenium	45 Rh Rhodium	46 Pd Palladium	47 Ag Silver	48 Cd Cadmium	49 In Indium	50 Sn Tin	51 Sb Antimony	52 Te Tellurium	53 I Iodine	54 Xe Xenon
55 Cs Cesium	56 Ba Barium		72 Hf Hafnium	73 Ta Tantalum	74 W Tungsten	75 Re Rhenium	76 Os Osmium	77 Ir Iridium	78 Pt Platinum	79 Au Gold	80 Hg Mercury	81 Tl Thallium	82 Pb Lead	83 Bi Bismuth	84 Po Polonium	85 At Astatine	86 Rn Radon
87 Fr Francium	88 Ra Radium		104 Rf Rutherfordium	105 Db Dubnium	106 Sg Seaborgium	107 Bh Bohrium	108 Hs Hassium	109 Mt Meitnerium	110 Uum Ununnilium	111 Uuu Unununium	112 Uub Ununbium	Gas Liquid Solid					

Figure 1: les différents métaux lourds de préoccupation pharmaceutique

Les impuretés élémentaires peuvent provenir de différentes sources et peuvent se retrouver dans le produit pharmaceutique à différentes phases de son développement. Lorsque l'on examine la production de produits pharmaceutiques, on observe des catégories larges de sources potentielles d'impuretés élémentaires (figure 1) :

* Les impuretés résiduelles découlant d'éléments intentionnellement ajoutés (p. ex., des catalyseurs) dans la formation de la substance pharmaceutique.

* Les impuretés élémentaires qui ne sont pas intentionnellement ajoutées et qui peuvent être présentes dans la substance pharmaceutique, l'eau ou les excipients utilisés dans la préparation du produit pharmaceutique.

*Les impuretés élémentaires qui peuvent être introduites dans la substance ou le produit pharmaceutique par l'équipement de fabrication.

* les impuretés élémentaires qui peuvent s'infiltrer dans la substance et le produit pharmaceutique à partir du contenant et dispositif de fermeture.

Du fait de la variabilité des sources d'impuretés, il est essentiel d'évaluer de manière fiable, précise et rapide la présence d'impuretés élémentaires au cours de la fabrication des produits pharmaceutiques. Ainsi, les essais relatifs aux métaux lourds sont utilisés tout au long des phases précliniques, cliniques et commerciales. Car, une consommation humaine involontaire de concentrations résiduelles de métaux lourds peut poser de graves problèmes de santé en fonction du métal, de la dose et de la durée concernés.

Donc comment on peut effectuer le contrôle des impuretés inorganiques dans les produits pharmaceutiques selon ICHQ3D ?

Partie theorique

Chapitre I :

reglementation

1.Définition de l' ICH :

En 1990, une initiative régionale liant les autorités d'enregistrement des Etats-Unis, du Japon et de l'Union Européenne et les associations représentant les industriels de ces trois régions se sont réunies sur l'initiative de la Fédération Internationale des Industries du Médicament et ont créé une conférence internationale appelée ICH : International Conferences for Harmonisation ou encore la Conférence Internationale sur l'Harmonisation des exigences techniques relatives à l'homologation des médicaments à usage humain.

L'objectif d'ICH est de faire des recommandations tendant à mieux harmoniser l'interprétation et l'application des directives techniques afin de diminuer les cas de duplication des expériences auxquelles on procède durant la recherche et le développement des nouveaux médicaments.

Cette harmonisation devrait permettre un usage plus économique des ressources humaines, animales et matérielles et éviter les retards apportés à la mise au point des médicaments et à leur mise à disposition, tout en maintenant toutes les précautions relatives à la qualité, à la sécurité d'emploi et à l'efficacité des produits, ainsi qu'aux règles destinées à protéger la santé publique.

Dans ce cadre, il y a eu cinq réunions : ICH1 à Bruxelles (Belgique) en 1991, ICH2 à Orlando (USA) en 1993, ICH3 à Yokohama (Japon) en 1995, ICH4 à Bruxelles en 1997 et ICH5 à San Diego (USA) en l'an 2000.

Durant ces conférences les autorités réglementaires et les représentants de l'industrie pharmaceutique travaillent ensemble pour mieux harmoniser les impératifs scientifiques, techniques et administratifs qui permettent d'assurer l'efficacité, la qualité et la sécurité d'un médicament dans un but d'accélérer sa commercialisation et sa disponibilité au patient et pour permettre aux industriels de faire des économies pour pouvoir développer d'autres molécules.

Depuis sa mise en place en 1990, l'International Conferences on Harmonisation a finalisé 45 guidelines en rapport avec la qualité, la sécurité, l'efficacité et même la communication.

L'ICH peut donc être considéré comme un succès de la coopération internationale en matière de médicament. [2]

2.Les différentes normes ICH :

L'harmonisation se traduit par la rédaction de normes directrices, établies conjointement par des experts réglementaires et industriels. Les normes ICH se divisent en quatre catégories Principales, lesquelles sont représentées par les lettres suivantes :

- Q : normes relatives à la Qualité (Qualité)
- E : normes relatives à l'efficacité (Efficacité)
- S : normes relatives à la sécurité (Safety)
- M : normes multidisciplinaires (Multidisciplinaire)

La catégorie Q (Quality) contient actuellement douze items qui balayent un large spectre de l'Assurance de la Qualité.

- Q1 : Etudes de stabilité

- Q2 : validation analytique
- Q3 : Impuretés
- Q5 : Qualité des produits biotechnologiques
- Q6 : Spécifications
- Q7 : Bonnes pratiques de fabrication
- Q8 : Développement Pharmaceutique
- Q9 : Management du risque qualité
- Q10 : Système qualité pharmaceutique
- Q11 : Développement et fabrication de substances pharmaceutiques (entités chimiques et entités biotechnologiques ou biologiques)
- Q12 : Gestion du cycle de vie du médicament

Les quatre normes ICH Q3 relatives aux impuretés sont les suivantes :

- Q3A « Impurities in New Drug Substances »:

La présente guideline ICH établit des recommandations pour la caractérisation et la qualification des impuretés dans les nouvelles substances actives produites par synthèse chimique. Le terme « nouvelle substance active » englobe toute molécule d'intérêt thérapeutique (molécule, entité chimique, sels, ...) qui n'a pas été enregistré auprès des autorités compétentes des Etats Membres.

La guideline s'intéresse aux impuretés inorganiques, organiques et les solvants résiduels, mais exclue tous les contaminants qui devraient être maîtrisés par l'application des BPF.

- Q3B « Impurities in New Drug Products »:

La guideline ICH Q3B complète la guideline ICH Q3A précédemment citée. La guideline s'intéresse aux impuretés dans les nouveaux produits médicamenteux : c'est-à-dire les impuretés classées comme produits de dégradations ou produits résultants d'une interaction avec un excipient et/ou le contenant.

- Q3C « Impurities: Guideline for Residual Solvents »:

L'objectif de cette guideline est d'assurer la sécurité des patients en recommandant des niveaux acceptables de solvants résiduels dans les médicaments. La présente norme établit les teneurs limites de solvants résiduels dans les médicaments en se basant sur l'évaluation des données de sécurité.

Ainsi la directive ICH Q3C classe les solvants résiduels en trois catégories, selon leur risque toxicologique pour l'homme :

1. solvants résiduels de classe 1 à éviter :

Ce sont les solvants cancérogènes (ou soupçonnés de l'être) chez les humains et qui présentent un risque pour l'environnement.

2. solvants résiduels de classe 2 à limiter :

Ce sont les solvants soupçonnés d'avoir d'autres effets toxiques importants, mais réversibles.

3. solvants résiduels de classe 3 à faible potentiel toxique

- Q3D « Guideline for Elemental Impurities »:

La guideline ICH Q3D s'attache à limiter le niveau d'impuretés élémentaires dans les médicaments, en introduisant la notion de seuil limite d'exposition et d'analyse de risque.

Le guideline ICH (International Conference on Harmonisation) Q3D établit la méthodologie pour l'évaluation des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques, dont les médicaments à usage humain.

La maîtrise des impuretés élémentaires est devenue aujourd'hui un enjeu supplémentaire dans la caractérisation d'un produit pharmaceutique. [2]

Le guideline ICH Q3D, applicable depuis juin 2016 pour les nouveaux produits et depuis décembre 2017 pour les produits existants, propose un processus de contrôle et d'analyse de risque de contamination.

L'ICH Q3D reporte 4 classes d'impuretés élémentaires, dont les métaux lourds, en fonction de leur impact toxicologique et de leur potentielle présence dans le produit pharmaceutique.

La méthodologie d'analyse des impuretés élémentaires (dont les métaux lourds) dans les médicaments est décrite dans la ligne directrice de l'USP 233 (Pharmacopée US n°233 : Elemental Impurities – Procedures).

Cette méthodologie d'analyse fait appel désormais à des techniques analytiques modernes telles que l'ICP (ICP-AES et ICP-MS).

La Directive ICH Q3D mentionne une première phase destinée à l'évaluation préliminaire (risk assessment) soit sur données documentaires, soit par une étape analytique de criblage en laboratoire (analytique qualitative et semi-quantitative screening, analyse quantitative ou dosage des impuretés élémentaires par ICP-AES et ICP-MS).

En fonction des résultats et la considération du seuil acceptable (30% du PDE), des plans de contrôles peuvent être mis en place et les Méthodes analytiques validées selon la Pharmacopée Américaine USP 233.

ICH Q3D préconise une évaluation du risque lié à la présence d'impuretés élémentaires dans les produits de santé. Pour cela, la toxicité de l'impureté mais aussi la voie d'administration du produit contaminé, doivent être prises en compte. [3]

La ligne directrice est divisée en trois parties :

- l'évaluation des données de toxicologie pour chaque impureté élémentaire potentielle
- le calcul de la PDE (permitted daily exposure), c'est-à-dire l'exposition journalière jugée acceptable pour l'utilisateur, pour chaque impureté.
- l'analyse du risque pour contrôler les impuretés élémentaires.[4]

3. La nécessité d'établir une ligne directrice harmonisée pour les impuretés métalliques :

En 2008, l'ICH se réunit à Bruxelles. Le besoin d'une ligne directrice harmonisée pour les impuretés métalliques est alors évoqué entre les experts.

Le contexte qui amène à cette constatation est le suivant :

3.1 Un besoin de santé publique

Les médicaments mis à disposition sur le marché doivent satisfaire les attentes en termes de qualité, d'efficacité, mais aussi et surtout de sécurité pour les consommateurs. Nous l'avons vu, Les impuretés élémentaires ne sont pas bénéfiques pour la santé humaine, certaines d'entre elles sont des toxiques avérés pour l'homme. Dans cette optique, il paraissait crucial de limiter les teneurs en éléments métalliques dans les produits médicamenteux .

3.2. Le besoin d'une guideline spécifique

Plusieurs approches ont déjà été établies pour maîtriser les taux d'impuretés organiques et les solvants résiduels au sein des médicaments. Ce sont les guidelines ICH Q3 qui s'attache aux impuretés. Il s'agit des normes ICH Q3A, Q3B et Q3C, respectivement publiées en octobre 2006, juin 2006 et novembre 2016 pour leurs versions finales.

Les impuretés inorganiques – parmi lesquelles on retrouve la famille des impuretés métalliques sont brièvement citées dans l'ICH Q3A :

” Inorganic impurities are normally detected and quantified using pharmacopoeials or other appropriate procedures. Carry-over of catalysts to the new drug substance should be evaluated during development. The need for inclusion or exclusion of inorganic impurities in the new drug substance specification should be discussed. Acceptance criteria should be based on pharmacopoeial standards or known safety data.”

« Les impuretés inorganiques sont normalement détectées et quantifiées suivant les pharmacopées ou suivant d'autres procédures appropriées. La rémanence des catalyseurs dans les nouvelles substances pharmaceutiques doit être évaluée pendant la phase de développement. La nécessité d'inclure ou d'exclure les impuretés inorganiques dans les spécifications des nouvelles substances pharmaceutiques devra être discutée.

Le critère d'acceptation devra se baser sur les standards des pharmacopées ou sur les données de sécurité connues. »

La notion de maîtrise des impuretés décrite ici par l'ICH Q3A s'appuie sur les essais décrits aux différentes Pharmacopées.

Nous voyons également que la recherche d'impuretés inorganiques n'est pas systématique. En effet, elle peut être exclue des spécifications de la substance active si la raison en est justifiée.

Ainsi la recherche d'impuretés inorganiques pourra varier d'une entreprise à une autre selon la politique mise en œuvre.

De plus, la notion décrite dans Q3A est celle des impuretés inorganiques : il s'agit d'un ensemble regroupant toutes les impuretés qui peuvent provenir du procédé de fabrication.

On y retrouve, en plus des métaux lourds et autres métaux résiduels : les réactifs, les ligands, les catalyseurs ; les sels inorganiques ; d'autres substances, telles que les adjuvants de filtration, le charbon de bois, ...

De fait, il n'existe aucune guideline ICH entièrement et spécifiquement dédiée au problème des impuretés élémentaires. L'objectif est d'en créer une qui s'aligne sur les lignes directrices ICH Q3 déjà parues.

3.3. « CHMP guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents »

En 2008, l'EMA publie une guideline relative aux résidus de catalyseurs métalliques. Il s'agit de « CHMP guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents », qui est structurée de la même manière que la norme ICH Q3C.

Néanmoins, le sujet de cette guideline est assez restreint, car il identifie seulement les catalyseurs métalliques comme source d'impuretés. La guidance de l'EMA ne tient pas compte de ces autres sources de contaminations potentielles :

- Les métaux qui sont, de manière intentionnelle, des composants du principe actif (on citera les sels.)
- Les excipients et leurs origines.
- Les métaux provenant d'une contamination qui devraient être maîtrisée par l'application des Bonnes Pratiques de Fabrication, c'est-à-dire provenant de l'équipement ou des utilités, par exemple.

Du fait de son sujet très spécifique, la guideline ne concerne pas certains métaux dont la toxicité est pourtant avérée, comme le plomb, le mercure, l'arsenic et le cadmium, puisque ceux-ci ne sont pas des catalyseurs métalliques. L'application de « CHMP guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents », sous sa forme initiale, a été reportée jusqu'à l'officialisation du référentiel ICH Q3D dans sa version finale.

Le but de l'ICH Q3D a été d'étendre la portée de la directive publiée par l'EMA de sorte que toutes les sources potentielles d'impuretés métalliques soient envisagées. Cela a également permis d'englober le Japon et les Etats-Unis, où rien n'avait été officiellement introduit concernant ce sujet.[2]

4. Le champ d'application D'ICHQ3D :

La guideline s'applique aux nouveaux produits finis (tels que définis dans les guidelines ICH Q6A et Q6B) et les nouveaux produits pharmaceutiques qui contiennent des substances Pharmaceutiques existantes.

D'autres produits rentrent dans le champ d'application : les médicaments contenant des protéines purifiées ou des polypeptides, leurs dérivés et les produits dont ils sont des composants, ainsi que les produits contenant des polypeptides, des polynucléotides et des oligosaccharides de synthèse.

En revanche, les exigences de l'ICH Q3D ne s'appliquent pas aux :

- produits à base de plantes médicinales
- les médicaments radiopharmaceutiques
- les vaccins
- les métabolites cellulaires
- les produits dérivés de l'ADN
- les extraits d'allergène
- les cellules, le sang total, les composants cellulaires du sang ou les

solutions de dialyse qui ne sont pas destinées à la circulation systémique.

- les médicaments de thérapie innovante : thérapies génique, cellulaire ou ingénierie tissulaire.

- les produits pharmaceutiques utilisés pendant les essais cliniques (l'application des exigences de l'ICH Q3D peut se faire plus tard, tout au long du procédé de commercialisation).

Pour ces produits-là, les exigences en termes d'impuretés métalliques sont comprises dans les spécifications du produit fini (par exemple pour les produits à base de plantes).[2]

5. Les objectifs de l'ICH:

L'implémentation de la guideline ICH Q3D apportera les avantages suivants :

- La sécurité des patients concernant les impuretés métalliques sera assurée par les méthodes de contrôle mises en place.

- Les tests redondants et non-harmonisés que réalisait l'industrie pharmaceutiques seront éliminés. Au lieu des trois méthodes différentes décrites dans les pharmacopées européenne, américaine et japonaise, une seule fera loi. En outre, les tests performés en routine sont maintenant limités par l'approche basée sur le risque de l'ICH Q3D. [2][2]

- La guideline harmonisée facilitera la revue réglementaire. Les résultats de l'analyse de risque ICH Q3D sont intégrés au dossier d'enregistrement du médicament (Common Technical Document). La section concernée du dossier est la section du Module 3, c'est-à-dire le module Qualité, relative au produit fini (section 3.2.P). Il s'agit de la section 3.2.P.5.5 « Characterization of impurities ». L'objectif général de cette section est de compiler les données concernant les impuretés présentes dans le médicament. On y retrouve des informations sur les produits de dégradation, les solvants résiduels, les impuretés liées aux excipients et, bien entendu, sur les impuretés élémentaires telles que définies par la guideline ICH Q3D. Intégrer les résultats de l'analyse de risque ICH Q3D dans le module 3.2.P.5.5 du CTD s'inscrit dans la démarche d'harmonisation. En effet, comme son nom l'indique, le CTD a pour intérêt d'être commun à la plupart des autorités de santé dans le monde – celles appartenant aux régions ICH. Les informations inhérentes aux impuretés élémentaires seront facilement consultables pour les différentes autorités de tutelles.

6- MÉTHODE POUR ÉTABLIR DES LIMITES D'EXPOSITION :

6.1. définition de l'EJA :

Le terme dose journalière tolérable (TDI) est utilisé par le Programme international de

sécurité chimique (IPCS) pour décrire les limites d'exposition des produits chimiques toxiques et le terme dose journalière acceptable (DJA) est utilisé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et d'autres autorités et instituts de santé internationaux. Pour éviter toute confusion de valeurs différentes pour les DJA de la même substance à la directive ICH Q3C

relative aux solvants résiduels, l'exposition journalière admissible (EJA) pour chacune des impuretés élémentaires a été définie. L'EJA est l'exposition maximale acceptable sur le plan pharmaceutique aux impuretés élémentaires sur une base chronique qui ne devrait pas produire d'effets nocifs sur la santé. L'EJA s'applique à chaque substance pharmaceutique.

Selon la directive concernant les impuretés élémentaires de l'ICH (Q3D), les facteurs pris en compte dans l'évaluation de l'innocuité visant à établir les EJA sont énumérés ci-après par ordre approximatif de pertinence :

- L'état d'oxydation probable de l'élément présent dans le produit pharmaceutique.
- Les données sur l'exposition humaine et l'innocuité, lorsqu'elles apportaient des renseignements pertinents.
- L'étude sur les animaux la plus pertinente.
- La voie d'administration.
- Le ou les paramètres pertinents.

Les valeurs d'EJA des impuretés élémentaires ont été établies, conformément aux procédures de fixation des limites d'exposition dans les produits pharmaceutiques et à la méthode adoptée par le Programme international pour la sécurité chimique (IPCS) pour évaluer le risque des produits chimiques pour la santé. L'ICH, l'USP et l'EMA ont tous établi des limites d'exposition journalière admissible. L'ICH et l'USP ont établi des EJA harmonisés pour les voies orale, parentérale et par inhalation. Tandis que l'EMA a établi des EJA pour les voies orale et parentérale seulement. [5]

6.2. Méthode proprement dite:

Comme nous l'avons abordé dans la partie précédente, la quantité maximale d'impureté qui peut être quotidiennement absorbée par l'homme sans que cela n'impacte sa santé est définie par l'Exposition Journalière Admissible (EJA) , ou « Permitted Daily Exposure » en anglais (PDE). [6]

On obtient l'EJA à partir de la concentration sans effet observé (CSEO) «No-Observed-Effect-Level» en anglais (NOEL) (c'est-à-dire la dose pour laquelle on n'observe aucun effet, pas même l'effet thérapeutique attendu.) , ou de la concentration minimale avec effet observé (CMEO) « Lowest-Observed-Effect-Level » (LOEL)(il s'agit de la dose la plus faible produisant un effet adverse ou une action pharmacologique) , obtenue dans le cadre des études les plus pertinentes menées sur des animaux à l'aide de l'équation suivante :

$$EJA = CSEO \times \text{facteur pondéral} / [F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5]$$

Avec l'EJA exprimée en µg/jour.

La CSEO est exprimée µg/kg/jour.

Le poids est exprimé en kg.

préférentiellement la CSEO sera utilisée. Si on n'obtient aucune CSEO, on peut utiliser la CMEO.

Le facteur pondéral est de 50 (kg) pour un humain adulte des deux sexes. Le poids choisi paraît faible, mais cela permet d'avoir une limite plus stricte – et donc plus sûre – que si le poids standard de 70 (kg) avait été choisi. Il s'avère que les patients adultes de 50 (kg) (ou moins) représentent une réalité médicale, et il s'agit d'une population particulièrement sensible. On considère que les enfants représentent la population la plus sensible au plomb, et on a utilisé les données provenant de cette population pour établir l'EJA. Par conséquent, on juge que les EJA sont appropriées pour les produits pharmaceutiques destinés aux enfants. [2]

Les facteurs modificatifs (les facteurs d'ajustement) sont les suivants :

- F1 = Facteur tenant compte de l'extrapolation des données entre espèces différentes (inter-espèce). En effet, la CSEO est le plus souvent déterminée par le biais d'études de toxicité conduites sur des animaux. Selon l'étude, l'animal utilisé est différent. Le facteur F1 prend en compte l'animal sur lequel s'est déroulé l'étude, et extrapole le résultat à l'homme.

F1 = 1 si la CSEO provient d'une étude de toxicité menée sur l'homme. Il est néanmoins rare que ce soit le cas.

F1 = 5 pour extrapoler les résultats issus d'études sur le rat à l'homme

F1 = 12 pour extrapoler les résultats issus d'études sur la souris à l'homme.

F1 = 2 pour extrapoler les résultats issus d'études sur le chien à l'homme.

F1 = 2.5 pour extrapoler les résultats issus d'études sur le lapin à l'homme.

F1 = 3 pour extrapoler les résultats issus d'études sur le singe à l'homme.

F = 10 si d'autres espèces animales que celles précédemment citées sont utilisées pour les études de toxicité.

- Le facteur F2 est le facteur qui considère la variabilité entre les individus, c'est-à-dire la variabilité intra-espèces. En effet, exposés à une même substance, deux individus ne réagiront pas de façon identique. Le facteur F2 est constant et généralement utilisé pour toutes les impuretés élémentaires.

Ainsi, F2 = 10 sera toujours utilisé pour la présente directive.

- Le facteur F3 varie selon le type d'étude de toxicité. Il tient compte de la durée de l'étude (court ou long terme) et de la nature de l'étude (quelles sont les toxicités qui ont été étudiées).

F3 = 1 pour les études qui s'étendent au minimum sur la moitié de la vie de l'animal. Par exemple, une étude qui dure 1 an chez les rongeurs et les lapins, ou 7 ans chez les chats, les chiens et les singes.

F3 = 1 pour les études de reproduction s'étendant sur toute la période d'organogénèse.

F3 = 2 pour les études de 6 mois chez des rongeurs, ou les études de 3,5 ans chez d'autres espèces animales.

F3 = 5 pour les études de 3 mois chez des rongeurs, ou les études de 2 ans chez d'autres espèces animales.

F3 = 10 pour toutes les études de plus courtes durées. Si la durée de l'étude se trouve entre les valeurs définies ci-dessus, le facteur le plus élevé sera choisi. Par exemple, si l'étude dure 5 mois chez le rongeur, on choisira F3 = 5 plutôt que F3 = 2, même si l'on peut penser qu'une étude de 5 mois est plus semblable à une étude de 6 mois qu'à une étude de 3 mois.

- Le facteur F4 est appliqué dans le cas où des toxicités sévères sont constatées : cancérogénicité, neurotoxicité ou tératogénicité non génotoxique. Dans les études de toxicité pour la reproduction, les facteurs suivants sont utilisés:

F4 = 1 si la toxicité fœtale est associée à une toxicité maternelle.

F4 = 5 si la toxicité fœtale n'est pas associée à la toxicité maternelle.

F4 = 5 pour un effet tératogène avec toxicité maternelle.

F4 = 10 pour un effet tératogène sans toxicité maternelle.

- F5 = Facteur variable qui peut être appliqué si la CSEO n'a pas été établie.

F5 = 1 pour une CSEO.

F5 = de 1 à 5 pour une DSENO (dose sans effet nocif observé).

F5 = de 5 à 10 pour une DMEO.

F5 = 10 pour une dose minimale avec effet nocif observé (DMENO)

NB : Pour chaque Impureté Élémentaire, la guideline ICH Q3D établit trois PDE, en fonction de la voie d'administration considérée : l'administration par voie orale, par voie parentérale et par inhalation. Pour établir ces différentes PDE, les experts se basent sur des études de toxicité où les voies d'administration adéquates sont employées.[6]

6.3. Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) des impuretés élémentaires de la directive Q3D de l'ICH :

Les EJA du présent tableau ont été établies en fonction des données sur l'innocuité décrites dans les monographies figurant à l'annexe 3 de la directive Q3D de l'ICH et visent les nouveaux produits pharmaceutiques. Les EJA indiquées dans les monographies ne sont pas arrondies. Par souci de commodité, les EJA du présent tableau ont été arrondies à 1 ou 2 chiffres significatifs. Les EJA inférieures à 10 affichent 1 chiffre significatif et sont

arrondies à l'unité la plus proche. Les EJA supérieures à 10 sont arrondies à 1 ou 2 chiffres significatifs, selon le cas. Les principes appliqués pour arrondir les chiffres du présent tableau s'appliquent à toutes les EJA calculées pour les autres voies d'administration. [2]

Element	Groupe	EJA par voie orale µg/jour	EJA par voie parentérale µg/jour	EJA par inhalation µg/jour
Cd	1	5	2	2
Pb	1	5	5	5
As	1	15	15	2
Hg	1	30	3	1
Co	2A	50	5	3
V	2A	100	10	1
Ni	2A	200	20	5
Tl	2B	8	8	8
Au	2B	100	100	1
Pd	2B	100	10	1
Ir	2B	100	10	1
Os	2B	100	10	1
Rh	2B	100	10	1
Ru	2B	100	10	1
Se	2B	150	80	130
Ag	2B	150	10	7
Pt	2B	100	10	1
Li	3	550	250	25
Sb	3	1200	90	20
Ba	3	1400	700	300
Mo	3	3000	1500	10
Cu	3	3000	300	30
Sn	3	6000	600	60
Cr	3	11000	1100	3

Tableau1 : expositions journalières admissibles pour les impuretés élémentaires.

7. Conversion de la PDE en concentration maximale admissible " maximum permitted concentration "

LaPDE exprime la quantité journalière maximale d'impureté inorganique c'est-à-dire la quantité pour laquelle aucun effet indésirable est observé pour le patient ; mais la PDE rend compte que de l'exposition totale donc il est bien d'établir une relation entre cette PDE et la prise du médicament à travers la concentration maximale admissible ; donc elle représente la quantité maximale d'impureté inorganique exprimée en µg qui peut être présente dans un gramme de médicament sans que cela engendre un effet néfaste pour le patient ; pour évaluer les impuretés élémentaires présentes dans les produits pharmaceutiques ou leurs composants.[2] Selon l'Ichq3D il existe 4 options pour calculer cette concentration, le requérant peut choisir n'importe quelle option ; Pour choisir une option donnée, le requérant doit connaître ou supposer la dose journalière du produit pharmaceutique.

Ces options diffèrent selon que l'analyse s'effectue sur le médicament dans son ensemble ou on analyse chaque composant du médicament.

7.1. Option 1 : calcul la concentration maximale admissible dans les composants des produits pharmaceutiques dont la dose journalière est inférieure ou égale à 10 grammes :

C'est la méthode la plus simple elle considère que la dose journalière du médicament est inférieure ou égale 10g ; cette option permet de calculer une concentration admissible commune des éléments cibles pour chaque composant du médicament.

$$\text{Concentration (ug/g)} = \frac{PDE(\frac{ug}{day})}{\text{dose journaliere du produit pharmaceutique } (\frac{g}{day})}$$

Si la concentration de tous les éléments cibles décelés au cours de l'évaluation des risques ne dépasse pas la concentration de l'option 1 dans tous les composants d'un produit pharmaceutique, il est possible d'utiliser tous ces composants dans n'importe quelle proportion dans le produit pharmaceutique.

Exemple :

Un médicament administre par voie orale dont la dose journalière est 2.5g contient 9 composants (une substance pharmaceutique et 08 excipients). Selon l'ICH Q3D les impuretés élémentaires à prendre en compte lors de l'analyse de risque dans ce cas-là sont les impuretés de la classe 1 c'est-à-dire : As, Cd, Hg et Pb, et celles de la classe 2a c'est-à-dire : Co ; Ni et V

Composants	Dose journalière en gramme
Principe actif	0.2
Cellulose microcristalline	1.1
Lactose	0.45
Ca phosphate	0.35
Crospovidone	0.265
Magnésium stéarate	0.035
HPMC	0.060
Dioxyde de titane	0.025
Dioxyde de fer	0.015

Dose journalière du médicament	2.5

Tableau 2 : doses journalière de chaque composant

On détermine la PDE pour les impuretés élémentaires identifiées comme potentiellement présentes dans le médicament et on n'oublie pas de choisir la PDA qui correspond à la voie orale car le médicament est pris par voie orale. La PDE est donnée par le tableau 02

IE identifié	As	Cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
EJA ug/jour	15	05	30	05	50	200	100

Tableau 3 : impuretés élémentaires et leur PDE-Exemple-option 1

Selon l'option 1 on considère que la dose journalière est 10g **donc**

La concentration maximale = EJA (ug/jour) / 10(g/jour)

IE identifiée	As	cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
EJA ug/jour	15	05	30	05	50	200	100
Composants	Concentration maximale calculée selon l'option 01 (ug/g)						
Principe actif	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Cellulose microcristalline	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Lactose	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Ca phosphate	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Crospovidone	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Magnésium stéarate	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
HP mC	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Dioxyde de titane	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Dioxyde de fer	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10

Tableau 4 : Calcul de la concentration maximale selon l'option 01

Puis il faut déterminer la dose journalière maximale potentielle de chaque impureté élémentaire en prenant la dose journalière réelle du médicament multipliée par la concentration maximale admissible ; Il s'agit de déterminer quelle quantité de chaque impureté on absorberait si l'on prenait le médicament à la posologie prescrite.

Prise Journalière Maximale potentielle = Dose Journalière en Médicament × concentration maximale admissible.

Par exemple pour l'arsenic la dose journalière maximale potentiel = $2.5 \times 1.5 = 3.75 \text{ ug/jour}$

IE identifiée	As	cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
EJA ug/jour	15	05	30	05	50	200	100

Composants	Concentration maximale calcule selon l'option 01(ug/g)						
Principe actif	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Cellulose microcristalline	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Lactose	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Ca phosphate	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Crospovidone	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Magnésium stéarate	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
HPMC	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Dioxyde de titane	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Dioxyde de fer	1.5	0.5	3	0.5	5	20	10
Dose journalière maximale potentielle en (ug/jour)	3.75	1.25	7.5	1.25	12.5	50	25

Tableau 5 : Calcul de la Prise Journalière potentielle maximale

Il s'agira ensuite de montrer que les concentrations « réelles » en IE dans chaque composant (déterminées par dosage) ne dépassent pas celles du tableau.

7.2 .Option 2a : Calcul la Concentration Maximale Admissible commune pour les composants d'un produit pharmaceutique dont la dose journalière est définie :

Pour la calculer on utilise la même équation utilise dans l'option 1 sauf que cette fois si on utilise la dose journalière réelle du médicament au lieu de 10mg ; Cette méthode permet de déterminer, pour chaque élément cible, une concentration maximale commune fixé en microgrammes par gramme de chaque composant en fonction de la dose journalière réelle fournie.

$$\text{Concentration (ug/g)} = \frac{PDE\left(\frac{ug}{day}\right)}{\text{dose journaliere du produit pharmaceutique } \left(\frac{g}{day}\right)}$$

Exemple :

On prend le même exemple que celui utilise pour l'option 1 donc un médicament administre par voie orale avec 09 composants (un principe actif et 08 excipients voir le tableau 04) dont la dose journalière est de 2.5 gramme. La synthèse de la substance pharmaceutique utilise le Pd et le Ni comme catalyseurs; les éléments Pb, As, Cd, Hg et V sont également préoccupants selon l'évaluation des risques.

Donc :

Concentration maximale admissible = PDE (ug/jour)/2.5(g/jour)

On garde toujours les même PDE

IE identifie	As	Cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
EJAug/jour	15	05	30	05	50	200	100

Tableau 6 : les impuretés élémentaires et leurs PDE-Exemple-option2a

On prend l'exemple de l'arsenic la concentration maximale sera égale $\frac{15}{2.5}=6\text{ug/g}$

On utilise la même étape avec les autres éléments identifiés on aura

IE identifie	As	cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
EJA ug/jour	15	05	30	05	50	200	100
Composants	Concentration maximale calcule selon l'option 2a(ug/g)						
Principe actif	6	2	12	2	20	80	40
Cellulose microcristalline	6	2	12	2	20	80	40
Lactose	6	2	12	2	20	80	40
Ca phosphate	6	2	12	2	20	80	40
Crospovidone	6	2	12	2	20	80	40
Magnésium stéarate	6	2	12	2	20	80	40
HPMC	6	2	12	2	20	80	40
Dioxyde de titane	6	2	12	2	20	80	40

Dioxyde de fer	6	2	12	2	20	80	40
----------------	---	---	----	---	----	----	----

Tableau 7 : Calcul de la concentration maximale selon l'option 2a

Et puis on calcul la dose journalière potentielle maximale de la même façon pour l'option 01

Dose Journalière potentielle Maximale

= *Dose Journalière en Médicament* × **concentration maximale admissible.**

IE identifie	As	cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
EJA ug/jour	15	05	30	05	50	200	100
Composants	Concentration maximale calcule selon l'option 2a (ug/g)						
Principe actif	6	2	12	2	20	80	40
Cellulose microcristalline	6	2	12	2	20	80	40
Lactose	6	2	12	2	20	80	40
Ca phosphate	6	2	12	2	20	80	40
Crospovidone	6	2	12	2	20	80	40
Magnésium stéarate	6	2	12	2	20	80	40
HPMC	6	2	12	2	20	80	40
Dioxyde de titane	6	2	12	2	20	80	40
Dioxyde de fer	6	2	12	2	20	80	40
Dose journalière maximale potentielle en (ug/jour)	15	5	30	5	50	200	100

Tableau 8 : Calcul de la Prise Journalière potentielle maximale

Il s'agira ensuite de montrer que les concentrations « réelles » en IE dans chaque composant (déterminées par dosage) ne dépassent pas celles du tableau. si ces concentrations sont pas dépassées pour chaque composant, il est garanti que le médicament ne dépasse pas l'EJA de chaque impureté élémentaire décelée.

L'Option 2a peut être utilisée si l'Option 1 est trop stricte.

7.3.Option 2b : Calcul des Concentrations Maximales Admissibles pour des composants dont la proportion dans les produits pharmaceutiques est considérée :

Il est possible de calculer la masse maximale prévue de chaque impureté élémentaire qui pourrait être présente dans les composants du produit pharmaceutique final en multipliant la masse de chaque substance qui compose le produit par la concentration admissible établie par le requérant pour chaque substance et en additionnant tous les composants du produit pharmaceutique, comme le décrit l'équation 2. La masse totale de l'impureté élémentaire présente dans le produit pharmaceutique doit respecter les EJA indiquées au **tableau 1**. Pour utiliser l'option 2b, on tient compte de la composition du produit pharmaceutique et des connaissances supplémentaires sur la teneur de chaque impureté élémentaire dans les composants du produit pharmaceutique. Une connaissance qui se basent sur :

- La littérature scientifique
- Les limites dans les monographies des composants concernant les IE
- Des données fournies par les fabricants/fournisseurs des composants
- Le dosage des IE dans les composants

L'Option 2b nécessite de calculer la prise totale d'IE due à la prise du médicament, exprimée en µg/jour.

La formule est la suivante.

$$\text{Prise totale d'IE (}\mu\text{g/jour)} = \sum_{k=1}^N CK \times MK$$

- Avec k : indice pour chacun des composants du produit pharmaceutique
- Ck : La concentration admissible de l'IE dans le Composant k (µg/g)
- MK: masse du composant k dans la dose journalière maximale du médicament (g)

La prise totale d'IE, exprimée en µg/jour, pourra directement être comparée à la PDE.

Exemple

Toujours avec le même exemple ; Le tableau suivant montre des données illustratives sur les impuretés élémentaires qui peuvent être calculées à partir des sources décrites en dessus

IE identifie	AS	Cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
Composant s	Concentrations en IE (ug/g)						
Principe actif	0.5	<LdD	<LdD	20	30	50	<LdD
Cellulose	0.1	0.1	0.1	<LdD	<LdD	<LdD	<LdD

microcristalline							
Lactose	0.1	0.1	0.1	<LdD	<LdD	<LdD	<LdD
Ca phosphate	1	1	1	<LdD	<LdD	5	10
Crospovidone	0.1	0.1	0.1	<LdD	<LdD	<LdD	<LdD
Magnésium stéarate	0.5	0.5	0.5	<LdD	0.5	0.5	<LdD
HPMC	0.1	0.1	0.1	<LdD	<LdD	<LdD	<LdD
Dioxyde de titane	1	1	1	<LdD	<LdD	<LdD	1
Dioxyde de fer	10	10	10	<LdD	10	50	2000

Tableau 9 : concentrations des IE dans les composants du médicament

Maintenant on multiplie $C_k \times M_k$

MK est obtenu à partir du **tableau 2**

Composants	Dose journalière en gramme
Principe actif	0.2
Cellulose microcristalline	1.1
Lactose	0.45
Ca phosphate	0.35
Crospovidone	0.265
Magnésium stéarate	0.035
HPMC	0.060
Dioxyde de titane	0.025
Dose journalière du médicament	2.5

Il nous reste que calculer la somme des $C_k \times M_k$ et on obtient le tableau suivant :

IE d'intérêt	As		Cd		Hg		Pb		Co		Ni		V	
	C	$C \times M$	C	$C \times M$	C	$C \times M$	C	$C \times M$	C	$C \times M$	C	$C \times M$	C	$C \times M$
Principe actif	0.5	0.1	<Ld D	0	<Ld D	0	20	4	30	6	50	10	<Ld D	0
Cellulose microcristalline	0.1	0.11	0.1	0.11	0.1	0.11	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0
Lactose	0.1	0.045	0.1	0.045	0.1	0.045	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0
Ca phosphate	1	0.35	1	0.35	1	0.35	<Ld D	0	<Ld D	0	5		10	3.5
Crospovidone	0.1	0.027	0.1	0.027	0.1	0.027	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0
Magnésium stéarate	0.5	0.018	0.5	0.018	0.5	0.018	<Ld D	0	0.5	0.018	0.5	0.018	<Ld D	0
HPMC	0.1	0.006	0.1	0.006	0.1	0.006	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0
Dioxyde de titane	1	0.025	1	0.025	1	0.025	<Ld D	0	<Ld D	0	<Ld D	0	1	0.025
Dioxyde de fer	10	0.15	10	0.15	10	0.15	<Ld D	0	10	0.15	50	0.75	2000	30
PRISE journalière TOTALE D'IE UG/JOUR	-	0.83	-	0.73	-	0.73	-	4	-	6.17	-	12.52	-	33.5

Tableau10 : Calcul de la prise journalière totale d'IE dans le médicament

La prise totale d'IE, exprimée en $\mu\text{g}/\text{jour}$, sera directement comparée à la PDE

7.4. Option 3 : analyse du produit fini

On peut mesurer la concentration de chaque élément dans le produit pharmaceutique final. L'équation 1 peut servir à calculer la concentration maximale admissible de l'impureté élémentaire au moyen de la dose journalière totale maximale du produit pharmaceutique. C'est la totalité du médicament qui est pris en considération. Cette option c'est vrai qu'elle ignore les composants mais présente l'avantage d'être rapide et plus simple.

Exemple :

Toujours avec le même exemple, On peut calculer la concentration maximale de chaque impureté élémentaire dans le produit pharmaceutique à l'aide de la dose journalière du produit pharmaceutique et de l'EJA de l'impureté élémentaire, au moyen de l'équation 1. La masse totale de chaque impureté élémentaire ne devrait pas dépasser l'EJA.

$$\text{Concentration Maximale admissible (ug/g)} = \frac{PDE(\frac{g}{day})}{\text{Dose max journaliere en medicament } (\frac{g}{day})}$$

avec la dose journalière égale a 2.5gramme

IE identifie	As	Cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
PDE (µg/jour)	15	5	30	5	50	200	100
Concentration maximale admissible (ug/g) selon l'option3							
Produit fini	6	2	12	2	20	80	40

Tableau 11 : calcul de la concentration maximale admissible

Puis on calcul la dose journalière maximale potentielle en impureté élémentaire se calcul de la même manière que l'option 1

RAPPEL

Dose Journalière potentielle Maximale

= **Dose Journalière en Médicament** × **concentration maximale admissible**

IE identifie	As	Cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
PDE (µg/jour)	15	5	30	5	50	200	100
Concentration maximale admissible (ug/g) selon l'option3							
Produit fini	6	2	12	2	20	80	40
Dose journalière potentielle maximale (ug/jour)	15	5	30	5	50	200	100

Tableau 12 : Calcul de la Prise Journalière Maximale en impuretés élémentaires

Puis les concentrations en IE dosées dans le médicament seront comparées aux concentrations maximales admissibles calculées dans le tableau.[7]

8. Impuretés Élémentaires à considérer lors de l'analyse de risque :

Le tableau ci-dessous récapitule quelles sont les impuretés élémentaires à prendre en compte lors de l'analyse de risque. Ce tableau peut être appliqué à toutes les sources d'impuretés élémentaires présentes dans le produit pharmaceutique.[2]

Elément	groupe	Ajout intentionnel (toutes les voies d'administration)	Ajout non intentionnel		
			oral	parentéral	Inhalation
Cd	1	OUI	OUI	OUI	OUI
Pb	1	OUI	OUI	OUI	OUI
As	1	OUI	OUI	OUI	OUI
Hg	1	OUI	OUI	OUI	OUI
Co	2A	OUI	OUI	OUI	OUI
V	2A	OUI	OUI	OUI	OUI
Ni	2A	OUI	OUI	OUI	OUI
TI	2B	OUI	NON	NON	NON
Au	2B	OUI	NON	NON	NON
Pd	2B	OUI	NON	NON	NON
Ir	2B	OUI	NON	NON	NON
Os	2B	OUI	NON	NON	NON
Rh	2B	OUI	NON	NON	NON
Re	2B	OUI	NON	NON	NON
Se	2B	OUI	NON	NON	NON
Ag	2B	OUI	NON	NON	NON
Pt	2B	OUI	NON	NON	NON
Li	3	OUI	NON	OUI	OUI
Sb	3	OUI	NON	OUI	OUI
Ba	3	OUI	NON	NON	OUI
Mo	3	OUI	NON	NON	OUI
Cu	3	OUI	NON	OUI	OUI
Sn	3	OUI	NON	NON	OUI
Cr	3	OUI	NON	NON	OUI

Tableau 13 : Éléments à prendre en compte dans l'évaluation des risques

9. Analyse de risque :

L'analyse de risques constitue un point essentiel de la guideline ICH Q3D. En effet, l'approche basée sur le risque doit s'appuyer sur les connaissances scientifiques suffisantes (confère ICH Q9), dans le but d'identifier, d'évaluer et de contrôler la présence d'impuretés élémentaires dans le médicament. Il est à noter que l'effort fourni pour l'approche basée sur

le risque doit être en cohérence avec le niveau de risque. Selon l'ICH Q3D, l'analyse de risque se déroule en trois étapes successives :

- Identifier toutes les sources (connues comme potentielles) d'impuretés élémentaires qui pourraient se retrouver dans le produit fini.
- Evaluer la présence des impuretés élémentaires dans le médicament, et la comparer avec la PDE établie.
- Résumer et documenter l'analyse de risque. Statuer si les contrôles en place sont suffisants, ou identifier des mesures additionnelles pour limiter le taux d'impuretés élémentaires dans le médicament.

L'évaluation des risques réalisée par le requérant peut être facilitée par des renseignements concernant les impuretés élémentaires potentielles provenant des fournisseurs des substances pharmaceutiques, des excipients, des contenants et des dispositifs de fermeture ainsi que de l'équipement de fabrication. Les données à l'appui de cette évaluation des risques peuvent provenir de différentes sources qui comprennent, sans toutefois s'y limiter :

- les connaissances préalables;
- la documentation publiée;
- les données générées par des procédés similaires :
- les renseignements ou les données provenant des fournisseurs;
- les essais auxquels ont été soumis les composants du produit pharmaceutique;
- les essais auxquels a été soumis le produit pharmaceutique.

9.1. Résultats de l'Analyse de risque :

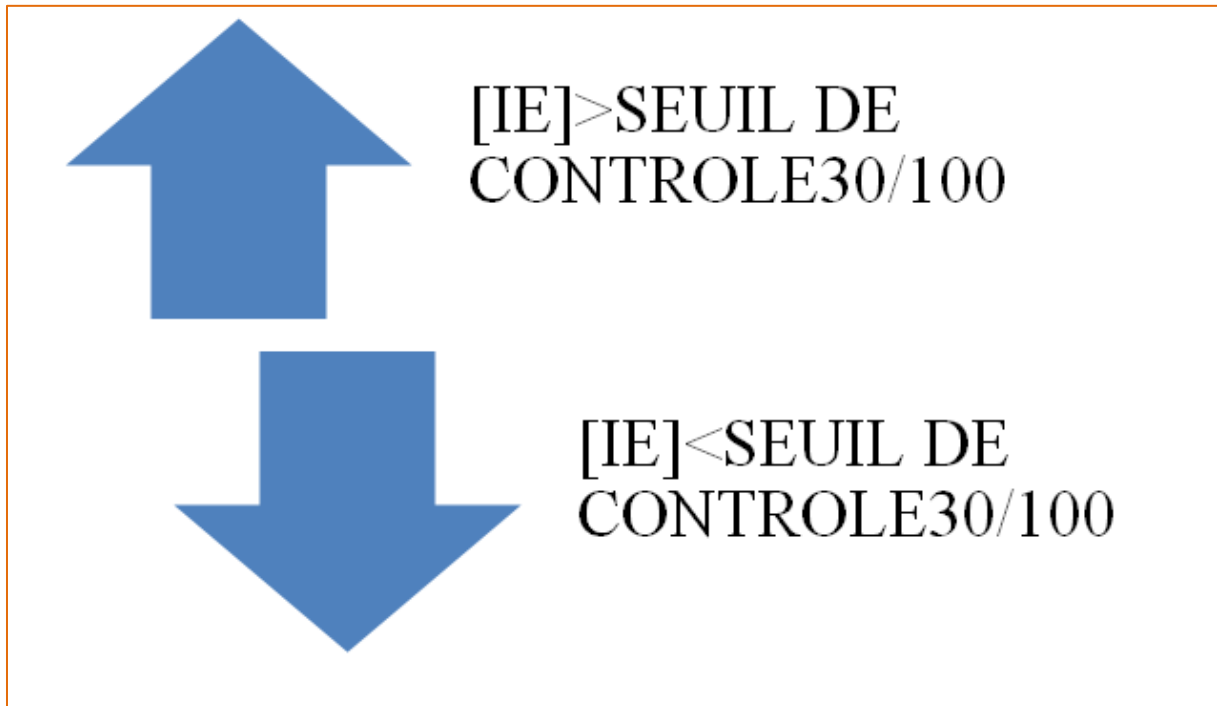
Pour mesurer l'importance de la concentration de l'impureté élémentaire observée, on définit le seuil de contrôle par la concentration correspondant à 30 % de l'EJA établie dans le produit pharmaceutique. Le seuil de contrôle peut servir à déterminer si des contrôles supplémentaires sont nécessaires ou pas .

Le contrôle des impuretés élémentaires est l'une des parties de la stratégie de contrôle globale d'un produit pharmaceutique qui permet de s'assurer que les impuretés élémentaires ne dépassent pas les EJA. Lorsque la concentration d'une impureté élémentaire peut dépasser le seuil de contrôle, il faut mettre en œuvre des mesures supplémentaires pour faire en sorte que la concentration ne dépasse pas l'EJA. Les méthodes qu'un requérant peut adopter comprennent, Sans toutefois s'y limiter [2]:

- Une modification des étapes du procédé de fabrication qui ramène les impuretés

Élémentaires sous le seuil de contrôle au moyen d'étapes de purification spécifiques ou non spécifiques;

- La mise en œuvre de contrôles en cours de fabrication ou en amont en vue de maintenir la concentration de l'impureté élémentaire sous le seuil de contrôle dans le produit pharmaceutique;
- L'établissement de limites de spécification pour les excipients ou les substances (p. ex., les produits intermédiaires synthétiques) ;
- L'établissement de limites de spécification pour la substance pharmaceutique;
- L'établissement de limites de spécification pour le produit pharmaceutique;
- La sélection de contenants et de dispositifs de fermeture appropriés.



Ce résultat laisse présager d'un procédé de fabrication fiable dont les étapes ne sont pas des « portes d'entrées » pour les impuretés élémentaires. S'il s'avère que l'impureté élémentaire est effectivement au-dessous du seuil de contrôle établi à 30% de la PDE, aucun contrôle additionnel n'est à prévoir pour cette impureté.

9.2. MÉTHODES D'ANALYSE :

Il convient de déterminer les impuretés élémentaires selon des méthodes appropriées qui conviennent à leur usage prévu. À moins d'une justification contraire, l'essai doit être spécifique à chaque impureté élémentaire pour laquelle l'évaluation des risques indique qu'un contrôle est nécessaire. Il convient de suivre les méthodes décrites dans les pharmacopées ou d'autres méthodes convenables pour déterminer les concentrations des impuretés élémentaires.

Chapitre II :

Toxicité des impuretés élémentaires

1. Introduction :

La sécurité et l'efficacité des produits pharmaceutiques sont deux caractéristiques fondamentales et très importantes en pharmacothérapie. L'innocuité d'un médicament est déterminée par son profil pharmacologique et toxicologique, ainsi que par les effets indésirables émanant d'une part de la substance médicamenteuse et d'autre part des impuretés présentes dans la préparation médicamenteuse. Les impuretés contenues dans les médicaments présentent souvent des effets pharmacologiques et toxicologiques indésirables qui peuvent aller à l'encontre des effets bénéfiques attendus de l'administration du médicament.

Parmi les impuretés rencontrées dans les produits pharmaceutiques, on a :

- Les impuretés organiques.
- Les impuretés inorganiques, minérales ou encore appelées impuretés élémentaires.
- Les solvants résiduels ou impuretés organiques volatiles.

*Les impuretés organiques peuvent apparaître au cours de la fabrication et (ou) l'entreposage de la nouvelle substance médicamenteuse. Leurs caractéristiques peuvent être connues ou non, elles peuvent être volatils ou non et elles comprennent ;

Les matières premières.

Les sous-produits, les intermédiaires.

Les produits de dégradations.....

*Les impuretés inorganiques peuvent provenir du procédé de fabrication. Généralement, elles sont connues et comprennent :

Les réactifs, les ligands et les catalyseurs.

Les métaux lourds.

Les sels inorganiques

*Les solvants sont des liquides organiques ou inorganiques utilisés au cours de la fabrication.

Ce qui nous intéresse c'est les impuretés élémentaires, dans ce chapitre là on va détailler les sources potentielles des impuretés élémentaires et leur classification en différents groupes ou classes, et la toxicité des impuretés élémentaires.

2. définition des impuretés élémentaires :

Les impuretés élémentaires sont des éléments chimiques, de la classe des métaux lourds et métalloïdes, ajoutés intentionnellement ou non dans le procédé de fabrication des

médicaments et qui se retrouvent dans le produit fini à des quantités supérieures au seuil de contrôle. Ces éléments proposés dans la ligne directrice de l'ICH Q3D sont au nombre de 24 éléments. Ces éléments sont colorés en jaune dans le tableau périodique des éléments chimiques de la figure 1.[5]

3. Classification des Impuretés Élémentaires selon ICH Q3D :

La guideline ICH Q3D classe les impuretés élémentaires en quatre catégories distinctes. Les impuretés élémentaires sont réparties entre ces classes selon leur toxicité et leur probabilité de présence dans le médicament. Pour établir la probabilité de présence d'IE dans les médicaments, plusieurs facteurs ont été pris en compte par les Experts responsables de l'élaboration d'ICH Q3D :

- La probabilité que l'élément soit utilisé pendant le processus de fabrication. On pensera notamment aux catalyseurs métalliques utilisés lors de la production, qui sont une source connue d'impuretés élémentaires.
- L'abondance naturelle de l'impureté élémentaire dans l'environnement. L'objectif de la classification est de porter l'accent sur les molécules toxiques, mais aussi sur celles dont la probabilité de présence dans le médicament est importante.

Classe 1 :

Contient des éléments toxiques pour l'organisme qui ne devraient pas être utilisés pour la fabrication des médicaments.

Les impuretés élémentaires de la classe 1 sont les suivants : L'Arsenic (As), le Cadmium (Cd), le Mercure (Hg) et le Plomb (Pb).

Origine : Ces impuretés se retrouvent potentiellement dans les médicaments par le biais des matières premières utilisées. Par exemple, les excipients minéraux extraits de mines, tel le kaolin, peuvent contenir d'importantes traces de plomb.

Analyse de risque : Les impuretés élémentaires de la classe 1 devront être considérées dans l'analyse de risques quelles que soient les conditions de fabrication du médicament et la voie d'administration utilisée.

Classe 2 :

Les impuretés élémentaires regroupées dans cette catégorie sont considérées comme des toxiques pour l'homme qui dépendent de la voie d'administration.

La Classe 2 est elle-même sous-divisée en deux classes, 2A et 2B, selon la probabilité de présence de l'IE dans le médicament.

Classe 2A : Il existe une haute probabilité que les impuretés de la classe 2A se retrouvent dans le médicament. La Classe 2A comprend les éléments suivants : Cobalt (Co), Nickel (Ni) ET Vanadium (V).

Origine : Ces éléments peuvent se retrouver dans le médicament à partir de toutes les sources possibles (excipient, contenant, ...), mais ils sont surtout connus pour être des catalyseurs métalliques utilisés lors de synthèses chimiques. Par exemple, les composés issus du Cobalt servent de catalyseurs notamment pour les réactions d'hydrogénation sélective.

Analyse de risque : Les impuretés élémentaires de la classe 2A devront être considérées dans l'analyse de risques quelles que soient les conditions de fabrication du médicament et la voie d'administration utilisée

Classe 2B : Les éléments appartenant à la classe 2B ont une probabilité moindre de se retrouver dans le produit fini que ceux appartenant à la classe 2A. Leur toxicité est également moindre. Les impuretés élémentaires que l'on retrouve dans cette catégorie sont les suivants : Argent (Ag), Or (Au), Iridium (Ir), Osmium (Os), Palladium (Pd), Platine (Pt), Rhodium (Rh), Ruthénium (Ru), Sélénium (Se) et Tellure (Te).

Origine : Ces impuretés sont très peu abondantes naturellement dans le milieu extérieur. Il y a très peu de chance de les retrouver dans un médicament, à moins qu'ils ne soient ajoutés intentionnellement au processus.

Analyse de risque : De fait, les impuretés élémentaires de la classe 2B ne devront être considérées dans l'analyse de risque si et seulement si elles sont ajoutées intentionnellement pendant le procédé de fabrication.

Classe 3 :

Les impuretés élémentaires de la classe 3 sont globalement peu toxiques par voie orale. Néanmoins, la toxicité pour les autres voies d'administrations reste un sujet de préoccupation. Les impuretés élémentaires que l'on retrouve dans cette catégorie sont les suivants : Baryum (Ba), Chrome (Cr), Cuivre (Cu), Lithium (Li), Molybdène (Mo), Antimoine (Sb) ET Etain (Sn). **Analyse de risque :** Pour la voie orale, ces éléments pourront ne pas être pris en compte dans l'analyse de risque, à moins qu'ils ne soient sciemment ajoutés durant le processus de fabrication. En revanche, si la voie d'administration est parentérale ou par inhalation, les impuretés élémentaires du groupe 3 devront être prises en compte dans l'analyse de risque.

Autre :

Quelques éléments ne sont pas inclus dans la version définitive de la guideline ICH Q3D, du fait de leur toxicité limitée. Ces éléments sont les suivants : Aluminium (Al), Bore (B), Calcium (Ca), Fer (Fe), Potassium (K), Magnésium (Mg), Manganèse (Mn), Sodium (Na), Tungstène (W) et Zinc (Zn). Notons que certains de ces éléments étaient présents dans la première version publique de la Guideline. Il faut néanmoins préciser que certaines de ces impuretés peuvent être concernées par une réglementation spécifique. Par exemple, la présence de tungstène (W) doit être évaluée pour les protéines thérapeutiques.

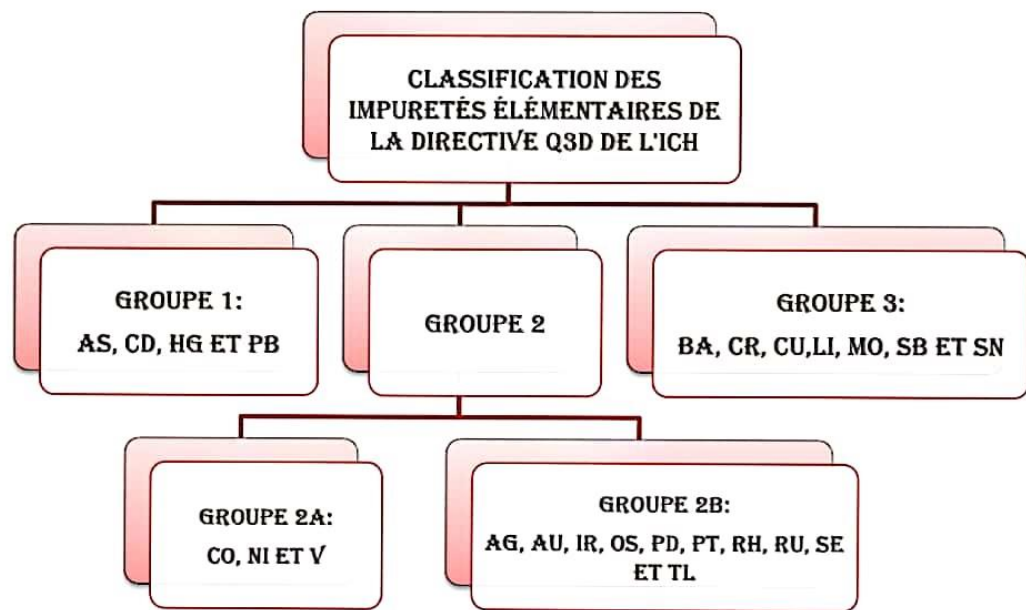


Figure 2 : classification des impuretés élémentaires selon l'ICH [2]

4. Classification des impuretés élémentaires de l'EMEA :

Les impuretés élémentaires sont classées en trois classes selon la directive de l'EMEA. Comme schématisé au niveau de la figure3

Les métaux présentant des toxicités importantes pouvant être cancérogènes pour l'homme sont placées dans la classe 1.

La classe 1 est subdivisée en trois sous-classes appelées classes 1A, 1B et 1C. Le platine et le palladium relèvent de la classe 1A. Les éléments Ir, Os, Rh et Ru sont placés dans la classe 1B. Les éléments de la classe 1C sont Mo, Ni, Cr et V. Les métaux à faible risque pour la sécurité des patients sont placés dans la classe 2 et comprennent le Cu et le Mn.

La classe 3 comprend les métaux sans toxicité significative, les éléments entrant dans cette catégorie sont le Fe et le Zn.

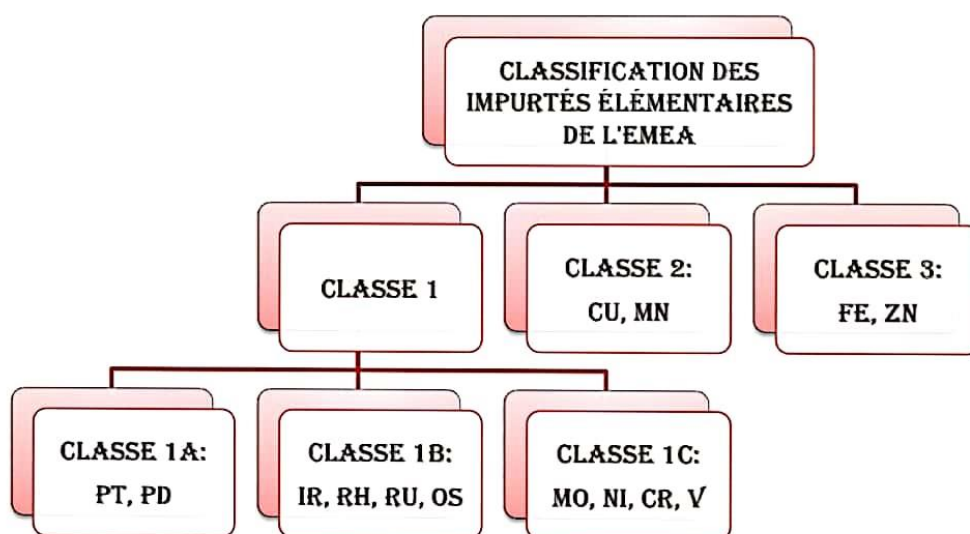


Figure 3 : classification des impuretés élémentaires selon EMA.

5. Sources potentielles des impuretés élémentaires :

Lorsque l'on examine la production de produits pharmaceutiques, on observe des catégories larges de sources potentielles d'impuretés élémentaires (figure4).[5]

- Les impuretés résiduelles découlant d'éléments intentionnellement ajoutés (p. ex., des catalyseurs) dans la formation de la substance pharmaceutique, des excipients ou des autres composants du produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur la substance pharmaceutique doit aborder le potentiel d'inclusion des impuretés élémentaires dans le produit pharmaceutique;
- Les impuretés élémentaires qui ne sont pas intentionnellement ajoutées et qui peuvent être présentes dans la substance pharmaceutique, l'eau ou les excipients utilisés dans la préparation du produit pharmaceutique;
- Les impuretés élémentaires qui peuvent être introduites dans la substance ou le produit pharmaceutique par l'équipement de fabrication.
- Les impuretés élémentaires qui peuvent s'infiltrer dans la substance et le produit pharmaceutique à partir du contenant et dispositif de fermeture.

5.1. Impuretés élémentaires potentielles dérivées de catalyseurs et de réactifs inorganiques intentionnellement ajoutés :

Si un élément est intentionnellement ajouté, il doit être pris en compte dans l'évaluation des risques. Dans cette catégorie, l'identité des impuretés élémentaires est connue, et les techniques de contrôle des impuretés élémentaires sont facilement caractérisées et définies.

5.2. Impuretés élémentaires potentielles qui peuvent être présentes dans les substances pharmaceutiques ou les excipients :

Même si certaines impuretés élémentaires ne sont pas intentionnellement ajoutées, elles peuvent être présentes dans certaines substances pharmaceutiques ou certains excipients.

L'évaluation des risques doit rendre compte de l'inclusion potentielle de ces éléments dans le produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur la voie d'administration orale doit étudier l'inclusion potentielle d'impuretés élémentaires du groupe 1 et du groupe 2A dans le produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur l'administration par voie parentérale et par inhalation doit étudier l'inclusion potentielle d'impuretés élémentaires du groupe 1, du groupe 2A et du groupe 3 dans le produit pharmaceutique, comme l'indique le tableau .1.

5.3. Impuretés élémentaires potentielles dérivées de l'équipement de fabrication :

L'apport d'impuretés élémentaires provenant de cette source peut être limité, et le sous-ensemble d'impuretés élémentaires dont il faut tenir compte dans l'évaluation des risques dépend de l'équipement de fabrication utilisé dans la production du produit pharmaceutique.

Les connaissances sur les procédés, le choix de l'équipement, la qualification de l'équipement et les contrôles conformes aux BPF permettent de s'assurer que l'apport provenant de l'équipement de fabrication reste faible.

Il convient d'évaluer les impuretés élémentaires préoccupantes précises en fonction des connaissances sur la composition des composants de l'équipement de fabrication qui entrent en contact avec les composants du produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur cette source d'impuretés élémentaires peut être utilisée pour de nombreux produits pharmaceutiques qui utilisent les mêmes processus et procédés de transformation. En général, les procédés qui servent à préparer une substance thérapeutique donnée sont considérablement plus agressifs du point de vue du potentiel de lessivage ou d'extraction d'impuretés élémentaires à partir de l'équipement de fabrication que les procédés utilisés pour préparer le produit pharmaceutique. L'apport d'impuretés élémentaires provenant de l'équipement de fabrication des produits pharmaceutiques devrait être inférieur à l'apport observé dans la substance pharmaceutique. Cependant, lorsque cela n'est pas le cas d'après les connaissances ou la compréhension au sujet du procédé, le requérant doit tenir compte de l'incorporation potentielle d'impuretés élémentaires provenant de l'équipement de fabrication des produits pharmaceutiques dans l'évaluation des risques (p. ex., extrusion d'adhésifs thermo fusibles).

5.4. Impuretés élémentaires infiltrées en provenance du contenant et du dispositif de fermeture :

La détection des impuretés élémentaires potentielles qui peuvent être introduites par le contenant et le dispositif de fermeture doit reposer sur une compréhension scientifique des interactions probables entre un type de produit pharmaceutique donné et son emballage.

Lorsqu'un examen des matières de fabrication montre que le contenant et le dispositif de fermeture ne contiennent pas d'impuretés élémentaires, il n'est pas nécessaire d'effectuer une évaluation des risques supplémentaire. On reconnaît que la probabilité de lessivage d'éléments dans les formes posologiques solides est minime et qu'elle n'a pas à être prise en compte de manière plus poussée dans l'évaluation des risques. Dans le cas des formes posologiques liquides et semi-solides, la probabilité de lessivage d'impuretés élémentaires en provenance du contenant et dispositif de fermeture au cours de la durée de conservation du produit est plus élevée. Il convient de mener des études afin de comprendre les éléments qui pourraient s'infiltrer à partir du contenant et du dispositif de fermeture (après le lavage, la stérilisation, l'irradiation, etc.). Cette source d'impuretés élémentaires est généralement prise en compte au cours de l'évaluation du contenant et du dispositif de fermeture du produit pharmaceutique.

Les facteurs à considérer (pour les formes posologiques liquides et semi-solides) comprennent, sans toutefois s'y limiter :

- Le caractère hydrophile/hydrophobe.
- La teneur en ions.
- Le pH.
- La température (température froide p/r à température ambiante et conditions de transformation).
- La surface de contact.
- La composition du contenant ou du composant.
- La stérilisation en stade terminal.
- La durée de l'entreposage.

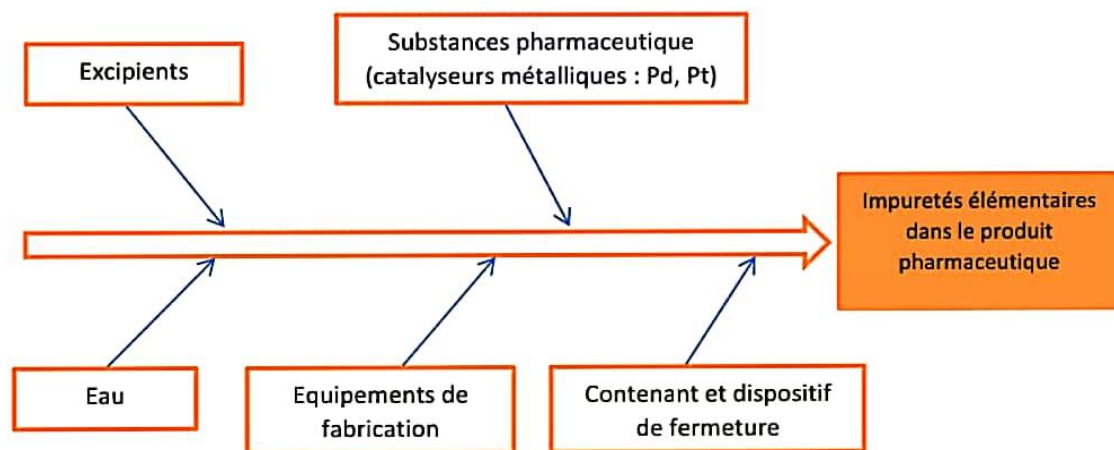


Figure 4 : sources des impuretés élémentaires au cours de processus de fabrication des médicaments et des produits pharmaceutiques.

6. Toxicité des impuretés élémentaires :

6.1. Définition de quelques termes scientifiques relatifs à la toxicité :

Reprotoxique ; Un produit classé comme reprotoxique affecte les fonctions de reproduction ; il réduit la fertilité ou entraîne une stérilité. Un reprotoxique peut également altérer le développement fœtal de l'enfant à naître, ou altérer le développement post-natal. La substance reprotoxique peut également provoquer des avortements spontanés ou mort in-utéro. [8]

Mutagénique ; Une substance mutagénique augmente le risque d'apparition de mutation. Les mutations sont des modifications irréversibles du nombre ou de la structure des chromosomes, pouvant produire des anomalies héréditaires ou en augmenter la fréquence. [8]

Génotoxique ; Une substance est dite génotoxique quand elle peut compromettre l'intégrité physique ou fonctionnelle du génome. Elle peut se manifester soit directement par action sur les 52 matériels génétiques (adduits, cassures de brins) et indirectement par l'intermédiaire de lésions oxydatives de l'ADN.[8]

Cancérogène ; une substance cancérogène est susceptible de provoquer le cancer ou d'en augmenter la fréquence.[8]

6.2. Toxicité des éléments :

• Arsenic (As) :

L'Arsenic est connu pour son potentiel génotoxique (non mutagène) et cancérogène.

L'Arsenic appartient au groupe I de la classification IARC – il s'agit de la classification des substances cancérogènes effectuée par l' « International Agency for Research on Cancer ».

L'Arsenic est reconnu toxique en cas d'ingestion, toxique par inhalation et très toxique pour les organismes aquatiques. [9]

Une exposition orale chez l'homme provoquerait des cancers de la peau, du foie, des poumons, du rein et de la vessie.

L'exposition par inhalation augmente significativement le risque de cancer du poumon. Plusieurs études épidémiologiques ont révélé une élévation du nombre de cancers du poumon et de la peau chez des personnes exposées à l'arsenic.

Exposition cutanée : Les lésions de la peau dues à l'arsenic ne sont pas toutes identiques et varient avec le type d'exposition. Des symptômes de type eczéma apparaissent avec des degrés de gravité variés. En cas d'exposition au travail à de l'arsenic essentiellement en suspension dans l'air, des lésions cutanées peuvent résulter d'une irritation locale. Il peut s'agir de deux types d'affections de la peau:

1. lésions eczématéiformes avec érythème (rougeur), gonflement et papules ou vésicules;
2. lésions de type folliculaire avec érythème et gonflement folliculaire ou pustules folliculaires.

D'autres effets indésirables, non-cancéreux, ont été rapportés. La symptomatologie de l'intoxication chronique à l'arsenic associe des troubles digestifs tels que nausées ou vomissements, à des mélanodermies avec kératoses palmo-plantaire, polynévrite des membres inférieurs, troubles hématologiques (anémie, neutropénie ou thrombocytopénie).[10]

• Cadmium (Cd) :

Le Cadmium est un génotoxique (non mutagène) et cancérigène, appartenant au groupe I IARC. L'exposition au Cadmium et à ses composants (oxydes de cadmium, sels de cadmium) entraîne le cancer du poumon. Il a également été montré une corrélation positive entre exposition au cadmium et cancer du rein et de la prostate (lésions prolifératives).

Par voie orale, les effets rénaux manifestent en premier, pour des doses très faibles. Ceci se caractérise par des lésions des tubules proximaux, un gonflement et une protéinurie.

L'ingestion de boissons contaminées par du cadmium à des concentrations supérieures à 15 mg de Cd/litre entraîne l'apparition des symptômes d'une intoxication alimentaire, à savoir des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales et parfois de la diarrhée.

L'inhalation de composés du cadmium à des concentrations supérieures à 1 mg de Cd/m³ d'air pendant 8 heures, ou à des concentrations plus élevées pendant de plus courtes périodes, peut entraîner une pneumopathie inflammatoire, et dans des cas graves, un œdème pulmonaire. Les symptômes qui s'apparentent à ceux de la grippe et évoquent la fièvre des fondeurs apparaissent généralement 1 à 8 heures après l'exposition. Les symptômes les plus graves de pneumopathie inflammatoire et de l'œdème pulmonaire peuvent présenter un temps de latence allant jusqu'à 24 heures. La mort peut survenir dans les 4 à 7 jours.

L'administration parentérale de cadmium à des animaux à des doses supérieures à 2 mg de Cd/kg de poids corporel provoque une nécrose des testicules. On n'a pas enregistré de tels effets chez l'humain.[10]

• Mercure (Hg) :

Le mercure est utilisé dans le domaine pharmaceutique en très petites quantités sous forme d'éthylmercure, autrement nommé ; le thiomersal, dans le but de conserver certains vaccins et produits pharmaceutiques. Ce dérivé de mercure est autorisé par l'OMS car il est facilement métabolisé par notre organisme et ne s'accumule pas. Un produit pharmaceutique peut être contaminé par le biais d'autres sources, tel que la non soumission des opérateurs aux règles de BPF, par l'introduction au sein du site industriel des objets contenant du mercure. Il peut être aussi présent dans l'air ou bien dans les poussières ce qui exige un traitement d'air efficace et une propreté de chaque zone du site industriel.

On peut distinguer trois formes de mercure : organique, inorganique et métallique. La forme la plus probable à apparaître dans les produits pharmaceutiques est le mercure inorganique.

La toxicité **chronique** due au mercure peut se manifester par :

- ♣ Une stomatite et une gingivite sévère accompagnée d'un saignement gingival, une sialorrhée avec goût métallique, qui peut se compliquer par la chute des dents.
- ♣ Une encéphalopathie qui peut être visible par des troubles du caractère (timidité excessive, insomnie, dépression, irritabilité...), aussi par des tremblements des doigts et des paupières ce qui induit une difficulté motrice.
- ♣ La reproduction est affectée par le mercure ; l'exposition à cet élément augmente le risque des avortements spontanés ainsi que l'émergence des mastopathies chez la femme, en plus d'un retard de développement moteur chez le fœtus, et favorise aussi l'oligospermie et la stérilité chez l'homme.
- ♣ Il est mortel par inhalation si l'exposition est aigue.
- ♣ Le mercure est classé selon le CIRC en classe 3 ce qui veut dire que l'effet cancérogène de cet élément métallique n'est toujours pas démontré.[11]

• Plomb (Pb) :

Le Plomb peut être à l'origine de plusieurs sources au sein d'une industrie pharmaceutique, cet élément peut être issu de l'eau, des catalyseurs, des agents de synthèse, des malversions du personnel fabricant... Il est également possible que cette contamination soit originaire du processus de fabrication et de conditionnement des produits pharmaceutiques.

L'exposition à long terme de petites quantités du plomb peut causer une intoxication chronique, dans ce cas, la principale pathologie est **le saturnisme**, elle se manifeste par l'anémie, la fatigue, l'asthénie, les maux de tête, les troubles digestifs à savoir des coliques péri-ombilicales très aigues forçant ainsi la personne atteinte à se courber en deux, des vomissements, des nausées, une constipation, des liserés gingivaux de couleur bleu foncé qu'on appelle les liserés gingivaux de Burton ou tâches jugales de Gubler, une perte d'appétit, ainsi qu'une encéphalopathie saturnine, exprimée par un trouble de mémoire, une aphasie

transitoire, une amaurose, une surdité, une nervosité... D'autres effets ont été démontré dû à cette intoxication chronique, on cite :

♣**Effets neurologiques** : Une encéphalopathie se manifestant par des hallucinations, des délires, une convulsion, un coma, et qui peut même aboutir au décès en absence de traitement, ou la survie avec des séquelles neurologiques. Des troubles des fonctions cognitives peuvent aussi être observés qui se manifestent par une asthénie, un trouble de sommeil, une diminution de la libido, des idées dépressives, des atteintes auditives, oculaires... [12]

♣**Effets rénaux** : une atteinte rénale peut être visible si la plombémie arrive à un taux supérieur à 30µg/100ml. La néphropathie peut être observée ultérieurement par une atteinte tubulaire proximale, une sclérose glomérulaire ainsi qu'une fibrose interstitielle. Les atteintes rénales peuvent même se compliquer dans certains cas en insuffisance rénale chronique.[13]

♣**Effets hématologiques** : se manifestant par une anémie.

♣**Effets génotoxiques et cancérogènes** : Cet élément est classé selon Le CIRC (Centre international de recherche sur le cancer) dans le groupe 2B (possiblement cancérogène) et 2A (probablement cancérogène).

♣**Effets sur la reproduction** : selon plusieurs études, une exposition chronique au plomb peut causer une diminution du nombre, de la concentration, de la motilité des spermatozoïdes, ainsi qu'une diminution du volume d'éjaculat, une augmentation d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez l'homme et un risque d'avortement spontané chez la femme.

• Cobalt (Co) :

Cet élément peut être additionné au cours de la fabrication, il peut être utilisé comme catalyseur métallique dans quelques réactions chimiques tel que les réactions d'hydrogénation sélectives. Il peut aussi être présents en faible quantité dans les matières premières tel que les excipients et les équipements de stockage inappropriés...[14]

Le cobalt est un agent qui peut être cancérigène pour l'homme. Sa toxicité peut se présenter sous forme de :

• **Atteinte respiratoire par inhalation de poussières contenant du cobalt métallique.** Les symptômes se manifestent par une irritation des voies respiratoires hautes et basses exprimée sous forme d'une rhinite, une sinusite, une pharyngite... allant jusqu'à l'asthme dû au cobalt par atteinte parenchymateuse, autrement dit, la maladie des métaux durs. Cette dernière peut impliquer à la fois des mécanismes immunologiques prouvés par la mise en évidence des IgE (Immunoglobulines E), elle se manifeste aussi par une toux sèche accompagnée d'une fièvre, une dyspnée et qui pourra se compliquer parfois en insuffisance respiratoire chronique.

• **Atteinte cutanée** visible sous forme de dermatite de contact allergique, urticaire en cas de contact direct avec du cobalt. [15]

- **Atteinte endocrinienne** surtout thyroïdienne exprimée sous forme de goitre et de myxœdème avec augmentation des thyroxine T4.
- **Atteinte neurologique, cardiovasculaire et hématologique.**
- **Effets génotoxiques** au niveau des lymphocytes circulants par augmentation des échanges entre les chromatides sœurs et par accroissement du nombre des cassures de l'ADN simple brin
- **Effets cancérigènes** visible surtout sous forme de cancer du poumon.
- **Nickel (Ni) :**

Le nickel peut être issu d'un relargage de l'acier inoxydable qui constitue les équipements de fabrication et de stockage des produits pharmaceutiques, même si cet acier présente une inertie chimique très importante, il se peut qu'une interaction chimique infinitésimal ait lieu entre le produit médicamenteux et les matériaux constituant les fûts et les équipements de concoction par exemple. Ils peuvent être aussi originaire de l'eau utilisé car cet élément est fortement soluble dans l'eau. Il existe plusieurs formes d'oxydation du nickel (allant de 0 à +3). Cet élément peut être cancérigène.[16]

La toxicité du nickel se manifeste par :

♣ **En cas d'ingestion** de forte quantité, on peut rencontrer des troubles digestifs à savoir des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales et une diarrhée, ainsi qu'une céphalée et une hypothermie. [17]

♣ **En cas d'inhalation de fortes doses de nickel**, Une détresse respiratoire peut être significative par contre aucun effet n'a été notifié par voie cutanée , **L'inhalation** du nickel peut provoquer de l'asthme chez certaines personnes accompagné dans quelques cas d'une rhinite, d'une urticaire, et d'autres affections respiratoires chroniques tel qu'une bronchite et une perturbation des voies respiratoires.[18]

♣ **Des effets génotoxiques** ont été visualisés sous forme d'une fréquence anormale d'aberrations chromosomiques.[16]

♣ Il s'est avéré aussi que le nickel peut provoquer un cancer du poumon, un cancer de la cavité nasale, ceci dû à sa forme soluble qui le rend plus absorbée par les poumons.[16]

• **Vanadium (V) :**

Cet élément peut être cancérigène pour l'homme. Il existe très peu de données concernant l'effet toxique du vanadium et ses dérivés.

Il est présent à l'état trace dans presque tous les organismes biologiques, ceci à cause de son existence dans l'eau potable.

Sa toxicité par voie pulmonaire se manifeste par une bronchite, une gêne respiratoire et peut se compliquer en cancer si l'exposition à cet élément est élevée.

Puis ses effets par voie orale lors de l'ingestion du vanadium peuvent se manifester par des nausées, une diarrhée ainsi que des crampes digestives.[19]

- **Argent (Ag) :**

L'argent est un élément qu'on peut trouver à l'état naturel sous forme d'oxydes, de sulfures et de sels. On peut le trouver dans l'eau sous forme de chlorure d'argent ou de nitrate d'argent, il sert en chimie dans la catalyse des réactions d'oxydation allant de l'éthylène en oxyde d'éthylène, il peut aussi être utilisé comme oxydant doux dans la synthèse organique.[2]

Cet élément ne présente pas de risque de cancérogénicité ou de pouvoir mutagène selon les études effectuées sur l'homme.[2]

L'ingestion de cet élément ou sa consommation sous forme de sels, de poussières, ou de composés contenant de l'argent se manifeste par l'argyrie, qui est une coloration bleue-grise de la peau, des muqueuses et des yeux, due aux dépôts de l'argent dans le derme. [2]

L'inhalation à long terme de grandes quantités d'argent se manifeste par l'irritation des poumons et de la gorge.[2]

- **Palladium (Pd) :**

Cet élément est utilisé comme catalyseur dans les réactions d'hydrogénation, de déshydratation, d'oxydation et d'hydrogénolyse. Il a été aussi utilisé auparavant dans les restaurations dentaires (couronnes, ponts) et a été notifié comme étant un élément provoquant des signes de dermatite de contact et de stomatite. Le palladium tend à s'accumuler dans les reins, non pas dans les autres organes. Il a été connu aussi comme irritant oculaire. Les études de cancérogénicité de ce métal n'ont pas abouti à des résultats positifs. [2]

- **Platine (Pt) :**

Le Platine (Pt) est un métal fortement utilisé sous forme de catalyseur dans les industries chimiques, notamment dans les réactions d'hydrogénation, d'isomérisation, de cyclisation, de déshydratation, de déshalogénéation et d'oxydation.[2]

Ses effets toxiques se manifeste par une irritation du nez et de la gorge, une respiration sifflante, une cyanose, ainsi qu'une incapacité à respirer d'une façon normale, et pouvant se compliquer en asthme chez certains individus lors d'une exposition professionnelle, avec le développement d'une dermatite érythémateuse squameuse accompagnée d'une urticaire. D'autres symptômes oculaires ont été notifiés sous forme de larmoiement des yeux, des éternuements... Les symptômes de toxicité s'aggravent en fonction de la durée d'exposition mais disparaissent juste après son arrêt. Aucune des études n'a démontré la cancérogénicité ou l'effet mutagène de cet élément.[2]

• **métaux platineux : Iridium (Ir), Osmium (Os), Rhodium (Rh), Ruthenium (Ru) :**

Ce groupe comprend quatre éléments métalliques, dont leurs valeurs d'EJA ont été calculées en se basant sur les données du palladium en raison de l'indisponibilité des données relatifs à chaque élément pour chaque voie d'administration[2] :

♣ **L'iridium (Ir)** : cet élément a été testé chez les rats par les tests de comètes, il s'est avéré que l'iridium a provoqué des cassures simple brin de l'ADN dans leurs fibroblastes après leurs incubations avec de l'hydrate de chlorure d'iridium pendant 24 heures.

♣ **L'osmium (Os)** : dans sa forme métallique, cet élément n'est pas toxique. Mais **sous forme de vapeur**, il peut provoquer des lésions oculaires, l'irritation des yeux, du nez, de la gorge, des bronches, de la peau, du foie et des reins. ♣ **Le rhodium (Rh)** : lors d'un test de comètes, cet élément a également provoqué des cassures simple brin d'ADN dans les fibroblastes des rats, après leurs incubations dans l'hydrate de chlorure de rhodium pendant 2 à 24 heures. Cet élément sous forme de trichlorure de rhodium peut également accroître le risque des tumeurs chez les souris.

♣ **Le ruthénium (Ru)** : cet élément s'est avéré génotoxique d'après les expériences résultant son exposition in vitro à une souche de Salmonella Typhimurium

• **Sélénium (Se) :**

Le sélénium existe sous plusieurs formes : le sélénium élémentaire, les sélénites et les sélénates. Ils servent dans la catalyse dans l'industrie chimique, les catalyseurs Ru-Se sont utilisés dans la réduction de l'oxygène, les réactifs d'aryl- et d'alkyl- sélénium ont plusieurs utilités dans la synthèse organique[2]

Le sélénium n'est pas du tout cancérigène, sauf sa forme sulfurée qui s'est avéré d'après les études, qu'elle peut générer un cancer.[20]

L'intoxication aigue **en cas d'ingestion accidentelle** peut être traduite par des irritations de la muqueuse digestive ainsi que d'autres signes neurologiques.[20]

En cas d'inhalation de la vapeur ou des poussières contenant du sélénium, le malade peut souffrir d'irritation nasale et pulmonaire associée à une toux.[20]

En cas de projection cutanée, les symptômes se manifestent par une irritation cutanée voire une brûlure.[20]

Lors d'une exposition chronique par inhalation du sélénium, on observe chez la personne atteinte des signes se manifestant par une asthénie, une irritabilité, une perte de poids, des tremblements, ainsi que d'autres signes : gastro-intestinaux notamment des nausées, des vomissements, une diarrhée, une dyspepsie, des douleurs gastriques. Des symptômes cutanés, nasals et oculaires peuvent aussi être visibles.[20]

. Les effets génotoxiques, tératogènes ou mutagènes n'ont pas été démontrés lors des études.

- **Thallium (Tl) :**

On pouvait auparavant trouver cet élément dans la composition des crèmes épilatoires, dans les insecticides et les rodenticides. On le trouve aussi dans les industries sous une forme associée au mercure au niveau des thermomètres utilisés dans les zones caractérisées par une température très basse. Le thallium peut aussi servir comme catalyseur dans quelques réactions chimiques organiques notamment dans les réactions d'oxydation lors de la synthèse organique.

L'intoxication par le biais d'ingestion d'une grande quantité du thallium peut se manifester par des crampes abdominales, de la diarrhée, des vomissements et de l'anorexie accompagnée de signes neurologiques sous forme d'anxiété, d'insomnie, d'irritabilité, de maux de tête.....

Les symptômes possibles lors d'une exposition chronique au thallium peuvent se manifester par des douleurs au niveau des membres, au niveau du dos, ainsi qu'une augmentation de la température. Cette intoxication peut aussi affecter les follicules pileux causant ainsi une perte de cheveux. Une diminution du poids peut subvenir ultérieurement. [17]

- **Baryum (Ba) :**

Le baryum est un élément qui peut être présent dans l'eau. Sa toxicité lors d'une **ingestion** de forte dose peut se manifester par une stimulation du muscle lisse, du muscle strié et du muscle cardiaque sous forme de crampes, ainsi que des signes digestifs, une diarrhée, des nausées et des vomissements.[2]

Lors d'une exposition à long terme, le baryum **inhale** peut provoquer des micronodules pulmonaires sans modifier la fonction pulmonaire. Ces derniers peuvent être visibles seulement via radiographie du fait de sa radio-opacité.

Des études menées sur l'ingestion du baryum soluble ont démontré que cet élément touche aussi le rein, ce qui peut provoquer une dilatation ou parfois une atrophie des tubules rénaux. Une hypertension artérielle a aussi été notifiée lors d'une contamination environnementale par le baryum. [21]

- **Chrome (Cr) :**

Cet élément se présente sous forme de plusieurs formes d'oxydation : le chrome bivalent qui agit comme réducteur dans la synthèse chimique, le chrome trivalent qui occupe une place très importante dans le métabolisme glucidique et lipidique, et le chrome hexavalent qui est un puissant oxydant.[2]

Il peut être introduit dans les produits médicamenteux par le biais des colorants, des catalyseurs, par dégradation des équipements de fabrication ou des contenants ou des dispositifs de fermeture.[2]

La toxicité de cet élément peut être observée en cas **d'ingestion accidentelle du trioxyde de chrome**, notamment sous forme de brûlures du tractus gastrique associées à des douleurs

abdominales atroces, des vomissements et une diarrhée, ainsi que des atteintes hépatiques, rénales.

L'inhalation du chrome peut causer une inflammation au niveau du système respiratoire, cet endommagement se manifeste par une toux et une difficulté pour respirer. La projection des atomiseurs sur la peau ou sur les yeux peut aussi provoquer des inflammations et des brûlures. [22]

L'exposition chronique au chrome par voie cutanée peut causer des brûlures qui peuvent guérir sous forme de cicatrices inesthétiques. Le chrome hexavalent est susceptible d'induire un cancer, notamment un cancer du poumon s'il est **inhalé** pendant une longue période.

• Cuivre (Cu) :

Le cuivre est connu comme étant un élément clef pour avoir une activité complète de la plupart des systèmes enzymatiques humains, et couvre d'autres tâches importantes dans notre organisme, à savoir l'hématopoïèse. Mais sa présence dans certains médicaments où il n'est pas censé être, fait de lui une impureté qui doit être éliminée.

Il est issu de plusieurs sources au cours de la fabrication des médicaments, il peut être utilisé comme agent précipitant et comme agent catalyseur au niveau des réactions d'hydrogénolyse et de décarboxylation. Il peut aussi être utilisé dans la fabrication des produits phytopharmaceutiques.[2]

La toxicité chronique par cet élément peut être sévère chez les patients atteints de la maladie de Wilson, qui est une maladie génétique qui empêche l'élimination du cuivre de l'organisme humain et favorise son accumulation dans les tissus hépatiques, rénaux, oculaires et au système nerveux.

Son inhalation à fortes doses et à long terme peut causer des irritations du tractus respiratoire. Pas de signes de génotoxicité, de reprotoxicité ont été notifiés.[23]

• Lithium (Li) :

Le lithium est un élément utilisé dans la thérapie des maladies psychiatriques comme stabilisateur d'humeur, à savoir les maladies maniaco-dépressives. Il peut être utilisé comme un catalyseur, ainsi que dans quelques réactions de la synthèse organique en tant que réducteur ou complexant. [2]

L'exposition aiguë par exemple en cas d'intoxication iatrogène ou en cas de surdosage peut causer des douleurs intestinales associées à des vomissements, des signes neurologiques, des symptômes rénaux et des signes cardiovasculaires.[24].[25]

L'intoxication à long terme peut causer des signes rénaux, des troubles endocriniens notamment une hyperthyroïdie, ainsi qu'une augmentation de l'activité de la parathyroïde. On peut aussi observer des effets ophtalmiques et des signes neurologiques lors d'une intoxication chronique. [24].[25]

La génotoxicité ainsi que la capacité d'induire un cancer par cet élément n'ont pas été démontrées par les études déjà faites

- **Molybdène (Mo) :**

Le molybdène peut être issu d'un relargage lors d'un contact à long terme du produit pharmaceutique avec le matériel de fabrication, avec les contenants de stockage ou de transport. Il est susceptible de contaminer les médicaments par le biais d'une eau mal purifiée. Il est aussi utilisé comme catalyseur dans la synthèse organique. [2]

Il n'y a pas de signes de toxicité distinctifs pour le molybdène cités dans la littérature. Aucun effet mutagène ou de génotoxicité n'a été mis en évidence, et la cancérogénicité de cet élément n'est pas évalué par la CIRC.

- **Antimoine (Sb) :**

Les dérivés d'antimoine ont été utilisés auparavant comme antiparasitaires, et en chimie comme catalyseur dans les réactions chimiques, notamment dans la synthèse du polyéthylène téréphtalate utilisé dans les outils de fermeture et les contenants. [2]

La toxicité de l'antimoine est importante si ce dernier est ingéré accidentellement puisqu'il n'est pas nécessaire sur le plan nutritionnel, il cible plus **précisément le système digestif** en entraînant des irritations, des sensations nauséabondes, une diarrhée et des vomissements.

- **Étain (Sn) :**

L'étain sous sa forme métallique peut être utilisé dans les métaux de type antifriction. Son dérivé inorganique « le chlorure d'étain » est utilisé comme agent réducteur ainsi qu'il joue un rôle important dans la stabilisation du polychlorure vinyle « PVC » utilisé dans le conditionnement primaire des comprimés... [2]

Aucune étude n'a prouvé la cancérogénicité et la génotoxicité de cet élément, mais une anémie a été démontré lors d'une expérience chez les rats.[2]

Chapitre III :

contrôle des impuretés élémentaires

1. Introduction :

Les impuretés élémentaires dans les médicaments sont un important sujet de préoccupation. Les raisons potentielles de leur présence sont nombreuses : elles peuvent se retrouver dans le produit final par le biais de catalyseurs métalliques utilisés lors de la synthèse chimique, par le biais d'interactions avec l'équipement de production ou le packaging, selon la nature ou l'origine des matières premières.....

Comme les impuretés élémentaires sont potentiellement toxiques pour le patient – ou, tout au moins, elles ne fournissent aucun bénéfice thérapeutique – il s'agit d'en contrôler la teneur dans les médicaments.

Donc Le contrôle des impuretés élémentaires est l'une des parties de la stratégie de contrôle globale d'un produit pharmaceutique qui permet de s'assurer que les impuretés élémentaires ne dépassent pas les EJA. Lorsque la concentration d'une impureté élémentaire peut dépasser le seuil de contrôle, il faut mettre en œuvre des mesures supplémentaires pour faire en sorte que la concentration ne dépasse pas l'EJA.

Concernant la détermination des impuretés élémentaire, les pharmacopées européennes et américaine recommandaient un «essai limite des métaux lourds» basé sur des méthodes analytiques chimiques et colorimétriques, tels que ceux décrits dans le chapitre 2.4.8 de la pharmacopée européenne sur les métaux lourds et le chapitre général « 231 » de la convention de la pharmacopée des États-Unis (USP).

La difficulté à obtenir des résultats fiables et reproductibles à partir des méthodes classiques colorimétriques a conduit au développement de nouvelles procédures qui sont suffisamment sélectives et sensibles.

En février 2017, de nouvelles procédures d'analyse des impuretés élémentaires (inorganiques) dans les produits et les ingrédients pharmaceutiques ont été établies. Les tests chimiques et colorimétriques, tels que ceux décrits dans le chapitre 2.4.8 de la pharmacopée européenne sur les métaux lourds et le chapitre général de la convention de la pharmacopée des États-Unis (USP), ont été remplacés par des méthodes instrumentales permettant de mesurer de manière spécifique et quantitative chaque impureté élémentaire dans les médicaments et leurs ingrédients. Comme techniques instrumentales modernes, on a la spectroscopie d'émission atomique avec plasma à couplage inductif (ICPAES) ou ICP-spectrométrie de masse (ICP-MS). Sachant qu'il existe d'autre méthodes de base telles que la spectroscopie d'absorption atomique.....

Ce qui nous intéresse dans ce chapitre **SAA ET ICP AES ET ICP MS**

2. Le test des « Métaux Lourds » :

2.1.Principe général :

Les métaux lourds détectés par les différents essais décrits dans le chapitre 2.4.8 sont ceux qui précipitent à pH 3,5 sous forme de sulfures colorés : plomb, cuivre, argent, mercure,

cadmium, bismuth, ruthénium, or, platine, palladium, vanadium, arsenic, antimoine, étain et molybdène, sous l'effet d'un réactif. Le réactif utilisé est le thioacétamide R. Il est ajouté à la solution à examiner, dont le pH est amené à la valeur de pH 3,5 par le biais d'une solution tampon. Dans le même temps, le thioacétamide R est ajouté à une solution témoin, qui contient une quantité connue de Plomb. La comparaison visuelle est effectuée avec le témoin. De fait, la teneur totale en métaux lourds est exprimée en « plomb », bien que différents métaux lourds soient testés. La coloration brune éventuelle de la solution à examiner ne doit pas être plus intense que celle de la solution témoin. Il s'agit d'une méthode colorimétrique, avec une interprétation des résultats visuelle. De fait, le résultat de l'essai peut être difficile à évaluer. Les méthodes A et B reposent sur l'utilisation d'eau ou de solvant organique. Ils sont seulement applicables aux substances à examiner solubles dans ces conditions. L'intensité de coloration de la solution peut être trop importante pour être interprétable. Dans ces conditions, il s'agit d'utiliser une filtration et de comparer les membranes filtrantes. Ces essais par filtration ne sont applicables que si l'on démontre que le filtre n'interfère pas sur la précipitation des sulfures sous l'effet du réactif thioacétamide R. Les méthodes C, D, F et G font intervenir une minéralisation préalable. La minéralisation se réalise par calcination. On les utilise lorsque les autres méthodes ne sont pas applicables, par exemple dans le cas d'une solubilité trop faible. Les essais C et D manquent de robustesse, car certains métaux lourds se volatilisent lors de la minéralisation. Les essais F et G reposent sur une minéralisation par voie humide. Néanmoins, l'essai F est long à réaliser ; l'essai G, dont le principe consiste en une minéralisation assistée par micro-ondes, est plus rapide. L'essai H, quant à lui, repose sur la dissolution des substances à examiner dans un mélange eau-solvant organique, dans un solvant organique ou dans le mélange de plusieurs solvants organiques. Ce principe de dissolution permet de contourner les problèmes liés à la calcination préconisée par les essais C, D, F et G.

2.2. Limites :

Comme on l'a vu, les essais décrits par le chapitre 2.4.8 reposent sur une interprétation visuelle de la couleur obtenue lors de la précipitation. La précision de la méthode n'est pas optimale.

De plus, seuls 15 éléments métalliques sont couverts par le chapitre 2.4.8 de la Pharmacopée, quand le guideline ICH Q3D en considère 24 au total.

En outre, la sensibilité de la méthode n'est pas idéale. Les essais A, B, C, D, F et G ne sont pas appropriés pour détecter les métaux lourds à des concentrations inférieures à 5ppm. L'essai E permet de descendre jusqu'à 0,5 ppm. Ces essais ne sont donc pas indiqués pour doser les métaux lourds à l'état de trace.

Donc on peut dire que L'application de ces méthodes présente plusieurs inconvénients tels que la mauvaise sélectivité, car elles ne discriminent pas les différentes espèces métalliques, et la très faible sensibilité. En plus, ce sont des méthodes qui reposent sur un examen visuel subjectif et qui impliquent généralement une étape de minéralisation par incinération, qui est connue pour provoquer des pertes d'éléments volatils.

3. Les méthodes dosage analytiques :

3.1. Préparation de l'échantillon :

La plupart des méthodes permettent l'analyse des éléments traces dans des matrices utilisent la SAA ou l'ICP qui nécessitent des étapes digestion/dissolution. En effet, les étapes de décomposition de l'échantillon et de transformation en une phase liquide homogène avant l'analyse sont nécessaires. Ainsi, la préparation d'échantillon reste l'étape essentielle de ces méthodes et l'efficacité de la méthode de digestion est particulièrement importante pour obtenir des résultats précis et reproductibles. En raison de l'absence de procédure de référence applicable à chaque élément, chaque matrice et chaque concentration, il incombe à l'utilisateur de faire les choix appropriés pour la préparation des échantillons.

La préparation de l'échantillon est une opération cruciale pour le succès de l'analyse élémentaire. Si la méthode comporte une atomisation, le mode le plus conventionnel d'introduction de l'échantillon dans le système d'atomisation est la nébulisation de solutions. Dans ce cas, les échantillons solides devront être mis en solution pour pouvoir être introduits dans le système d'atomisation. Tout solvant approprié peut être utilisé à cet effet. L'emploi de solutions aqueuses ou de solutions dans l'acide nitrique dilué est fortement recommandé car ces solvants comparés à d'autres, génèrent très peu d'interférences. L'acide chlorhydrique, l'acide fluorhydrique, l'acide perchlorique, l'acide sulfurique et le peroxyde d'hydrogène, à diverses concentrations, sont aussi des solvants possibles pour la dissolution des échantillons. Les bases diluées, les solvants organiques (dilués ou non), des combinaisons d'acides ou de bases, des combinaisons de solvants organiques, entre autres, sont également des solvants possibles. Les acides, les bases et le peroxyde d'hydrogène utilisés doivent être de haute pureté, notamment pour la SM-ICP. Pour les solutions aqueuses, il convient d'utiliser de l'eau distillée désionisée R. Si la procédure comprend l'utilisation de diluants, il faut vérifier qu'ils n'interfèrent pas dans l'analyse. Comme il n'est pas toujours possible de se procurer des solvants organiques exempts d'impuretés élémentaires, il convient d'utiliser des solvants organiques de la plus haute qualité possible en termes de contaminants métalliques. Lorsqu'un échantillon s'avère n'être soluble dans aucun solvant acceptable, diverses techniques de minéralisation ou de Calcination peuvent être mises en œuvre, en récipient ouvert Ou fermé, telles que la minéralisation sur plaque chauffante, la calcination ou la minéralisation assistée par micro-ondes. Le choix de la technique de minéralisation dépend de la nature de l'échantillon ainsi que du ou des éléments visés et de la teneur des éléments à quantifier. La minéralisation en récipient ouvert est à éviter pour l'analyse d'éléments volatils. La minéralisation paraît s'imposer dans de nombreux cas, surtout pour de échantillons solides. Elle permet de limiter ou de faire disparaître les interférences liées aux matières organiques et de réaliser en outre une concentration qui améliore la sensibilité des mesures. Le cycle de minéralisation est approprié s'il conduit à l'obtention d'une solution limpide. Les méthodes de mise en solution sont nombreuses et classiquement, on décrit deux types de méthodes de digestion fondées sur le principe de la fusion (voie sèche) ou de la digestion par les acides (voie humide).[26]

3.1.1- Digestion par voie sèche :

*les échantillons chauffés à hautes températures (supérieures à 600°C) dans des fours à moufle, lors du chauffage il se produit diverses réactions qui modifient l'échantillon :

A 100°C l'eau se vaporise

Vers 500°C c'est la matière organique brûlée qui donne du gaz carbonique (CO_2)

Cette méthode présente les inconvénients de conserver une quantité de particules non dissoutes qui augmente le bruit de fond, et d'entraîner la perte des métaux volatils

3.1.2-Digestion par voie humide :

a- en récipient ouvert :

La température de réaction est moins élevée que celle de la voie sèche ; entre 200°C et 300°C : du coup les risques de pertes par volatilisation sont réduits. Elle se fait principalement avec des acides forts. L'acide nitrique (HNO_3) est l'acide fort le plus couramment utilisé en raison de son pouvoir oxydant approprié. Des mélanges de HNO_3 avec HCl , HF , HClO_4 , H_3PO_4 et H_2SO_4 sont également utilisés, selon la matrice, les analystes et / ou le système de digestion. L'échantillon est d'abord déposé dans un bécher de verre propre, puis il est mélangé avec un acide oxydant fort, un mélange d'acides ou un mélange d'acides et d'agents oxydants. Ensuite, le contenant est déposé sur une plaque chauffante où celle-ci chauffera la solution lentement jusqu'à attendre l'ébullition de la solution. La digestion se réalise alors et la matrice organique est décomposée alors que les métaux sont dissous dans la solution et celle-ci devient alors claire. La digestion se poursuit jusqu'à la quasi complète évaporation de la solution. Lors de la digestion, il peut être important de porter une attention particulière à la possible déposition de l'échantillon sur la paroi du contenant. Il faut alors rincer la paroi avec de l'acide ou de l'eau distillée afin d'éviter toute perte. Le récipient contenant les analytes digérés est refroidi puis ces derniers sont dissous dans une solution diluée de l'acide afin de passer à l'analyse. Une filtration peut être nécessaire si la matrice a laissé des dépôts insolubles après la digestion.

b- en récipient fermé (par micro-onde) :

la technologie micro-onde a permis de pallier à de nombreux inconvénients de minéralisation acide aussi bien en terme de précision analytique ; de coût de minéralisation ; et de vitesse de préparation. Le premier avantage est l'utilisation de bombes fermes qui évitent toute perte d'éléments volatils contrairement aux techniques en milieu ouvert ; ce qui en fait une technique de choix pour l'analyse des métaux [27] ; la minéralisation va consister à dissoudre la totalité de l'échantillon dans une phase liquide à l'aide d'un mélange d'acide. Pour accélérer le processus de l'attaque acide ; le mélange est chauffé et mis sous pression. La température du mélange est portée jusqu'à environ 240°C sous plus de 100 bars. L'intérêt de la montée en température et en pression est de réduire drastiquement le temps de digestion par attaque acide de l'échantillon. Typiquement, le temps de préparation est passé de quelques

heures à quelques dizaines de minutes[28].le contrôle de la puissance et des paramètres (températures et pressions) assure la répétabilité et la sécurité ;la quantité d'acide utilisée est très faible ;l'instrument d'analyse élémentaire accepte uniquement comme échantillon un échantillon en phase liquide

3.2. Spectroscopie d'absorption atomique :

3.2.1. Introduction :

La spectrométrie d'absorption atomique (AAS) est une technique décrite pour la première fois par Walsh en 1955[29].elle étudie les absorptions de lumière par l'atome libre c'est une des principales techniques mettant en jeu la spectroscopie ou spectrométrie atomique dans le domaine UV- visible. Elle étudie les absorptions de lumière par l'atome libre. C'est une des principales techniques mettant en jeu la spectroscopie ou spectrométrie atomique dans le domaine UV-visible utilisée en analyse chimique.

Elle permet de doser plus de soixante-dix éléments chimiques (métaux et non-métaux) du tableau de Mendeleïev. Les applications sont nombreuses étant donné qu'on atteint couramment des concentrations inférieures au mg/L (ppm).[29]

3.2.2. Principe :

C'est l'analyse par l'absorption de radiations d'une certaine longueur d'ondes (UV-Vis), par des atomes libres à l'état fondamental conduisant à un passage d'un de ses électrons externes d'une orbite électronique à une autre et un changement de l'énergie. Cette absorption est spécifique à chaque élément. Une source de rayonnement émet des radiations spécifique correspondant à la différence d'énergie entre l'état fondamental et un état excité de l'échantillon à analyser. L'analyte doit être transformé en atomes libres à l'état fondamental capables d'absorber une partie de ce rayonnement. Le rayonnement non absorbé passe par un monochromateur jusqu'à un détecteur[30]. L'absorption est ensuite mesurée, elle dépend directement du nombre de particules à l'état fondamental qui est en fonction linéaire de la concentration de l'analyte ($A = k c$, où k est un coefficient propre à chaque élément).

3.2.3.Appareillage :

L'instrumentation est presque identique pour toutes les méthodes atomiques bien que la configuration des composantes doive y être modifiée. Un spectrophotomètre d'absorption atomique comprend généralement une source, un atomiseur, un monochromateur, un détecteur et un dispositif d'acquisition.[30]

A-LAMPE :

La source de lumière la plus utilisée avec la technique d'absorption atomique est la lampe à cathode creuse (HCL).Généralement, chaque lampe est dédiée à l'analyse d'un seul élément, bien que dans certains cas, certains éléments peuvent être combinés dans une seule lampe. Elle est constituée d'une enveloppe de verre scellée contenant une cathode métallique

cylindrique creuse et une anode en tungstène ou en nickel. L'enveloppe est aussi pourvue d'une fenêtre en verre ou en quartz. L'ampoule est remplie d'un gaz rare (argon ou néon) sous une pression de quelques mm Hg. Le spectre d'émission comporte des raies intenses qui dépendent de l'élément constituant la cathode. 40 espèces métalliques sont couramment utilisées. La sélectivité élevée de la SAA est due au fait qu'on utilise pour chaque élément une lampe particulière.[31]

En appliquant une DDP (environ 300 V) entre les deux électrodes, le gaz rare s'ionise et bombarde la cathode. Des atomes libres excités par chocs sont donc arrachés. Il y a par la suite une désexcitation radiative caractéristique de ces atomes en revenant à leur état fondamental.



Figure 5 : Lampe à cathode creuse

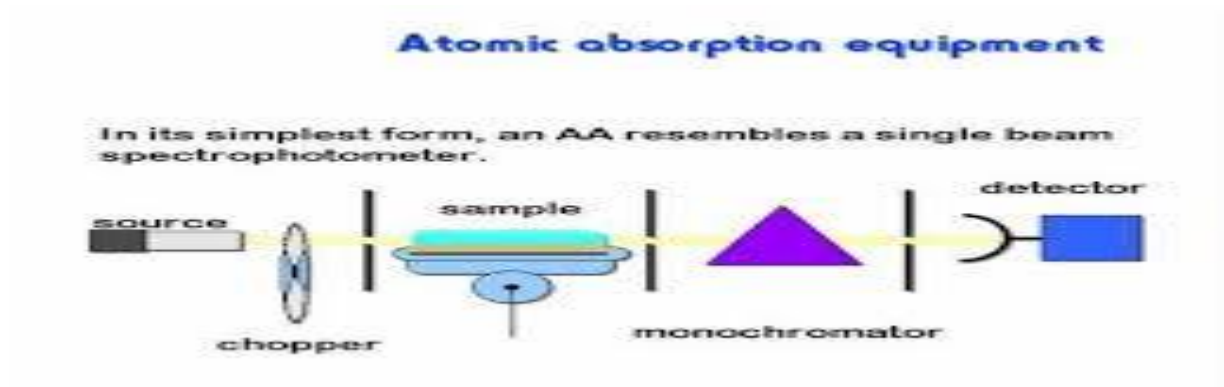


Figure 6 : Equipement de l'absorption atomique

B-Atomiseur :

Atomisation : est le processus qui convertit un échantillon liquide en atomes libres

La SAA nécessite d'avoir les atomes à l'état fondamental, afin d'observer les raies caractéristiques de l'élément. L'atomiseur doit donc fournir des atomes libres sans les exciter. Il faut de la chaleur pour faire passer l'échantillon généralement en solution à l'état d'un gaz atomique. Cette chaleur peut être générée par une flamme ou par un four de graphite

B.1.Atomiseur de flamme :

L'atomiseur est un bruleur à fente laminaire, alimenté par un mélange combustible/comburant. L'échantillon est aspiré et fragmenté en fines gouttelettes par un nébuliseur pneumatique. L'aérosol formé arrive dans une chambre de nébulisation où les gouttelettes les plus grosses sont éliminées. Au bout d'un certain parcours au seuil de la flamme, le solvant de la gouttelette est éliminé, il reste les sels ou particules solides qui sont alors fondus, vaporisés puis atomisés.[29] La température de la flamme dépend de la nature du mélange combustible/comburant. La flamme air acétylène est la plus répandue et permet de réaliser le dosage de nombreux éléments. Sa température est de 2500°C environ.

B.2.Atomiseur électrothermique :

Il s'agit d'un tube cylindrique de 2 à 3 cm de long et de 0.5 cm de diamètre, en graphite de conductibilité thermique uniforme chauffé par effet Joule[32]. L'échantillon est injecté dans un tube en graphite et chauffé électrothermiquement à différentes étapes pour atomiser l'analyte. En absorption atomique four graphite l'atomisation a lieu en trois étapes :

- Séchage
- Décomposition
- Atomisation

Le fonctionnement du four graphite est une technique complémentaire à l'absorption atomique flamme conventionnelle et ajoute des avantages à l'analyse

C- Sélecteur de longueur d'onde (monochromateur) :

Son rôle consiste à choisir la raie la plus intense et d'éliminer toute lumière quelle que soit son origine, ayant une longueur d'onde différente de celle à laquelle on travaille (les raies du gaz de remplissage dans la source, d'éventuelles impuretés ou de l'atomiseur).

D-Le détecteur :

Permet de détecter les photons et de les compter individuellement. Ce dernier mesure les intensités lumineuses nécessaires au calcul des absorbances.



Figure 7 : SAA de flamme



Figure 8 :SAA de four

3.2.4. Dosage :

La courbe d'étalonnage est déterminée de deux manières différentes :

*Étalonnage direct -> courbe d'étalonnage avec une gamme étalon

☺ Pour les concentrations faibles la loi de Beer Lambert est suivie.

☺ En revanche on procèdera à des dilutions suffisantes pour travailler dans le domaine linéaire ou quasi -linéaire

*Méthode des ajouts dosés -> revoir après

3.2.5. Interférences :

-Le dosage de l'analyte par le SAA peuvent être perturbé par d'autre analyte dans la solution ça ce qu'on appelle effet de matrice .la réalisation d'une gamme d'étalonnage avec une solution pur peut induire une distorsion des résultats.

☺ La méthode des ajouts doses permet de corriger cette différence :

Procédé : on réalise une gamme, dans chaque tube de gamme il Ya une quantité croissante de solution étalon puis on ajoute dans chaque tube de gamme la même quantité de solution à analyser, et on mesure l'absorbance dans chaque tube

On obtient une courbe d'absorbance en fonction des concentrations en tubes .on obtient la quantité en analyte initialement présent dans l'échantillon en extrapolant la droite jusqu'au point d'intersection avec l'axe des abscisses et bien sûr que cette extrapolation est démontré.

*le four en graphite il est en carbone il peut absorber une certaine quantité d'énergie (absorption parasite).

* les fours à très haute températures émettent un rayonnement thermique qui s'ajoute à celui de la lampe donc je vais avoir deux sources lumineuses ;il est donc difficile pour la monochromateur de sélectionner une seule longueur d'onde

*superposition de raies de résonance, lorsque l'échantillon n'est pas pur il contient les atomes étudié plus d'autre impuretés du coup je vais avoir une absorption de fond ; il peut s'en affranchir :

*par opération a deux longueurs d'onde

* En atomisation électrothermique, il convient d'optimiser la température de pyrolyse pour éliminer les produits de décomposition de la matrice qui sont responsables de l'absorption de fond.

* La correction de fond peut également être effectuée en utilisant 2 sources lumineuses différentes, la lampe à cathode creuse qui mesure l'absorption totale (élément + fond) et une lampe au deutérium à spectre d'émission continu, qui permet de mesurer l'absorption de fond. La correction consiste à soustraire le signal de la lampe au deutérium du signal de la lampe à cathode creuse. Cette méthode n'est cependant applicable que sur un domaine spectral limité, car les spectres émis par les lampes au deutérium vont de 190 nm à 400 nm.[26]

*une autre méthode de correction de l'absorption de fond est l'application de l'effet Zeeman (décomposition de la raie d'absorption sous l'influence d'un champ magnétique). Elle est particulièrement utile lorsque l'absorption de fond présente une structure fin.[26]

Flamme	Four
La SAA de flamme analyse seulement les solutions	la SAA de four de graphite analyse les solutions et les solides.
La durée du passage de l'échantillon dans la flamme est très courte donc une portion significative n'a pas le temps d'être atomisée	l'atomisation est totale, le temps de séjour moyen des atomes dans le trajet optique est relativement long.
Moins sensible	Plus sensible
Moins couteuse	Plus couteuse

Tableau 14 :Comparaison entre atomisation par flamme et atomisation par four [33]

3.2.6. Avantages :

Haute sensibilité, grande spécificité, rapidité, faible quantité de substance nécessaire (1 ml de la solution peut suffire) et facilité de préparation des solutions étalons.[29]

3.2.7. Limitations :

*L'aspect non qualitatif de la technique impose la connaissance des éléments à doser afin de choisir la source adaptée.

* Ne permet pas l'analyse simultanée d'éléments.

*domaine d'application limité presque exclusivement aux métaux.

3.3. Méthodes analytiques instrumentales basées sur l'ICP :

Le plasma est considéré comme le quatrième état d'un matériau, en plus des états solide, liquide et gazeux. Dans un équipement ICP, l'argon forme la base du plasma et ce gaz doit être alimenté avec précision grâce aux régulateurs de débit massique. Le plasma affiche une température très élevée d'environ 7 000 degrés Celsius. Comme la composition du plasma doit toujours être juste, le débit d'argon doit être précis et continu. Et pour protéger l'environnement extérieur de ces températures élevées, un gaz de refroidissement (argon) est projeté à l'extérieur du réacteur.

***Plasma par couplage inductif (ICP : inductively coupled plasma):**

C'est la méthode la plus utilisée en chimie analytique permettant de doser la quasi-totalité des éléments simultanément. Le plasma à couplage inductif est un gaz inerte (généralement l'argon) porté à un état hautement ionisé, avec un nombre égal d'électrons et d'ions, entretenu par un champ de radiofréquence (RF). Les températures élevées (7000 K et 15000 K) atteintes au coeur du plasma entraînent successivement la désolvation, la vaporisation, l'excitation - détectée par spectrométrie d'émission atomique (SEA) - et l'ionisation détectée par spectrométrie de masse (SM) - des atomes présents dans l'échantillon. Les limites de détection sont de l'ordre de quelques nanogrammes (SM-ICP) à quelques microgrammes (SEA-ICP) par litre.

le plasma est généré par passage d'un flux tangentiel de gaz plasmagène à travers une « torche », système composé de 3 tubes (cylindres) de quartz concentriques coaxiaux. Une bobine d'induction en métal dans le haut de la torche, raccordée à un générateur de radiofréquence. La puissance (généralement 700-1500 W) appliquée à la bobine génère un champ magnétique oscillant de fréquence imposée par le générateur (généralement 27 MHz, 40 MHz). Le plasma se forme lorsque le gaz plasmagène est rendu conducteur par application d'une décharge électrique qui produit des électrons et ions d'amorçage. Le champ magnétique induit confine les particules chargées (électrons et ions) sur un parcours annulaire fermé. Lorsqu'elles rencontrent des résistances, il se produit un échauffement qui entraîne une ionisation supplémentaire. L'oscillation de la puissance de radiofréquence appliquée à la bobine crée dans la zone située à la sortie de la torche des champs électrique et magnétique de

radiofréquence. Lorsqu'une étincelle (produite par une bobine de Tesla ou un autre dispositif d'amorçage) est appliquée au flux gazeux traversant la torche, certains électrons sont arrachés

aux atomes du gaz, puis capturés et accélérés par le champ magnétique. L'apport d'énergie aux électrons par l'intermédiaire de la bobine est appelé couplage inductif. Ces électrons

chargés d'énergie entrent à leur tour en collision avec d'autres atomes du gaz plasmagène, auxquels ils arrachent de nouveaux électrons. L'ionisation par collision se poursuit ainsi par une réaction en chaîne et transforment le gaz en un plasma physique composé d'un mélange d'électrons, d'atomes du gaz plasmagène et d'ions de ce même gaz. Le plasma est alors entretenu, dans la torche et la bobine d'induction, grâce à l'alimentation continue en énergie par la puissance de radiofréquence, selon le processus de couplage inductif.[26]

L'ICP peut être couplé avec la spectrométrie de masse de même qu'avec la spectrométrie d'émission atomique. La spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) couple l'ICP pour générer des ions avec un spectromètre de masse pour détecter les ions générés par le plasma. Tandis que la spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) couple l'ICP pour générer des ions excités ou des atomes qui émettent un rayonnement électromagnétique à des longueurs d'onde caractéristiques de certaines impuretés élémentaires avec un spectromètre d'émission atomique pour évaluer la concentration des éléments pouvant être déterminée par l'intensité d'émission. [5]

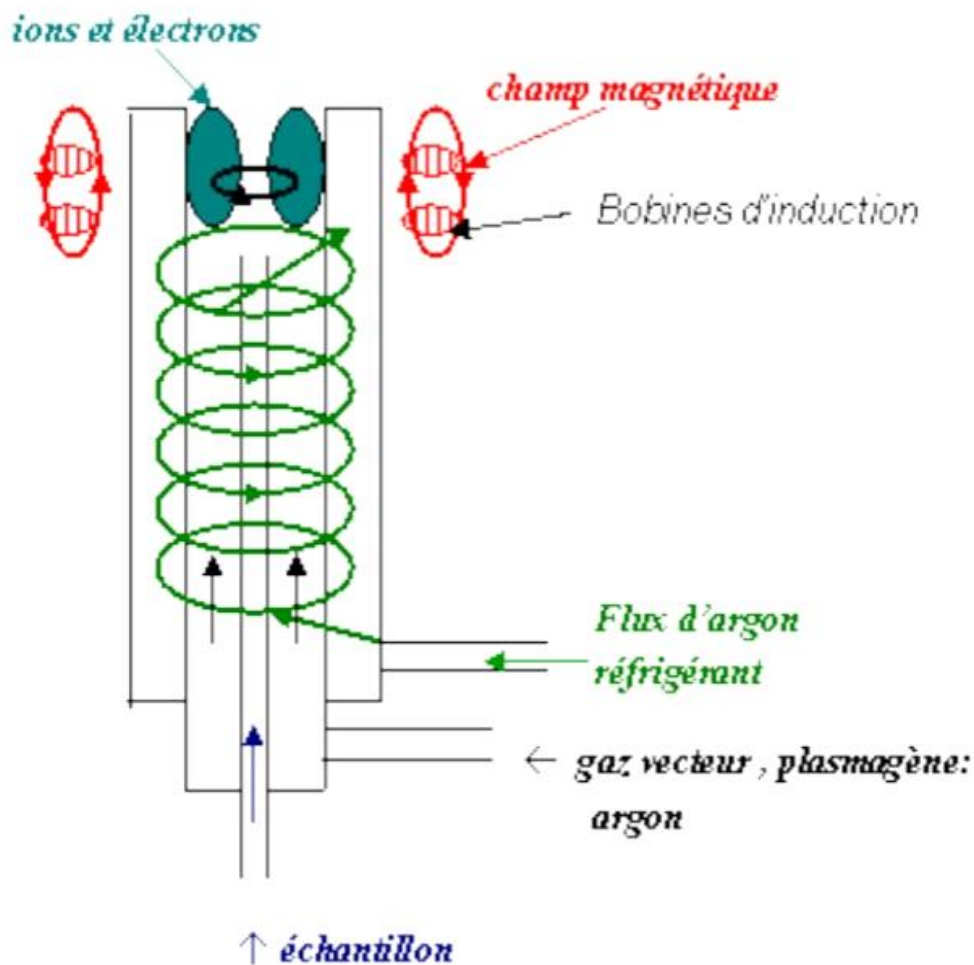


Figure 9 : schéma simplifié d'un système de génération d'un plasma à couplage inductif

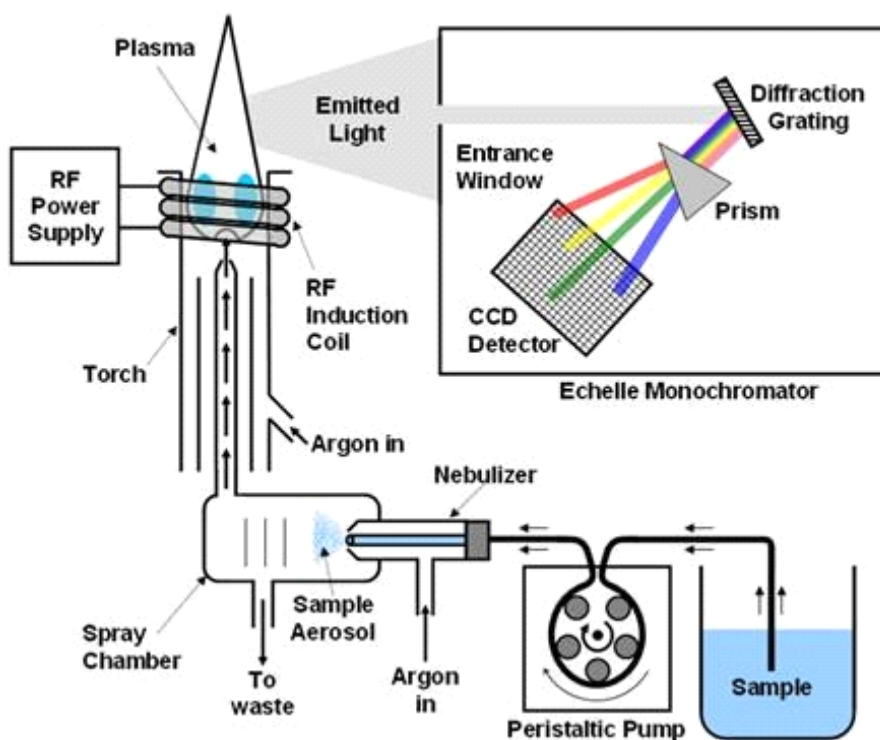
3.3.1. Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) :

c'est une technique qui se base sur le fait qu'une fois qu'un atome d'un élément spécifié est excité (comme dans l'absorption atomique), il émet de la lumière dans un schéma caractéristique de longueurs d'onde (un spectre d'émission) lorsqu'il retourne à l'état fondamental. La flamme n'est pas une source d'excitation idéale pour l'émission atomique. Des sources plus chaudes sont donc utilisées. Un plasma d'argon induit est utilisé pour désolvater, atomiser et exciter les atomes dans l'échantillon liquide qui a été nébulisé dedans. L'intensité de la lumière émise est mesurée en utilisant la détection optique aux longueurs d'onde caractéristiques des éléments d'intérêt. L'ICP-AES est capable de mesurer l'émission atomique et ionique afin que plus de longueurs d'onde soient contrôlée. Ces mesures peuvent être comparées à un étalon pour quantifier la concentration des éléments dans l'échantillon.

3.3.1.1.Appareillage:

Pour une analyse pratique avec l'ICP-AES, l'appareillage (figure 10/11) doit comporter les composants essentiels suivants:

- Un système d'échantillonnage pour introduire l'échantillon dans le plasma, constitué d'une pompe péristaltique qui délivre la solution dans un nébuliseur à débit constant.
- un générateur de radiofréquence.
- une torche plasma.
- une optique de transfert qui assure la focalisation de l'image du plasma sur la fente d'entrée du spectromètre.
- des systèmes dispersifs de longueurs d'onde constitués de réseaux de diffraction, de prismes, de filtres ou d'interféromètres.
- Un système de détection pour mesurer l'intensité des émissions lumineuses.
- une unité d'acquisition des données (Un ordinateur avec logiciel de calcul et d'affichage des spectres d'émission et des valeurs de concentration).[26]



ICP-AES : Instrumentation

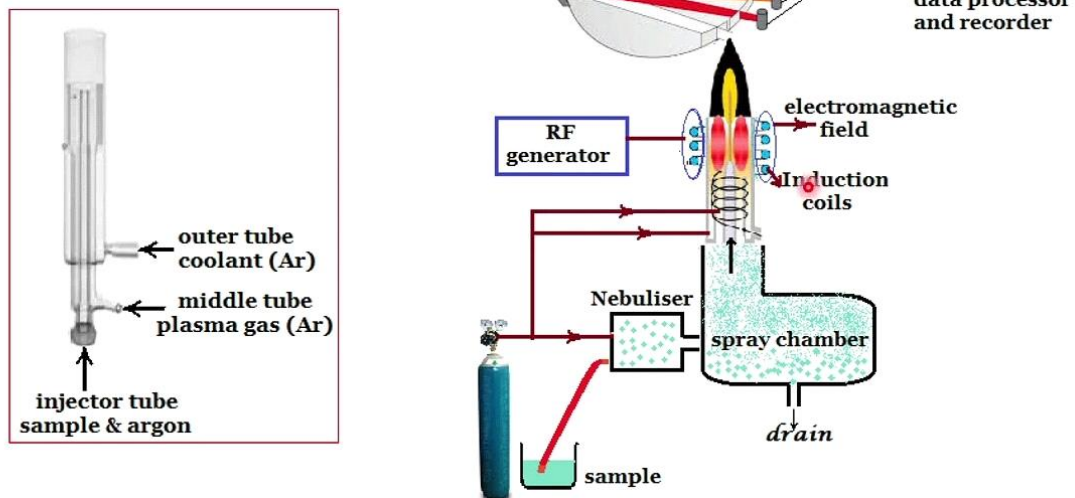


Figure 10 : instrumentation de l'ICP-AES

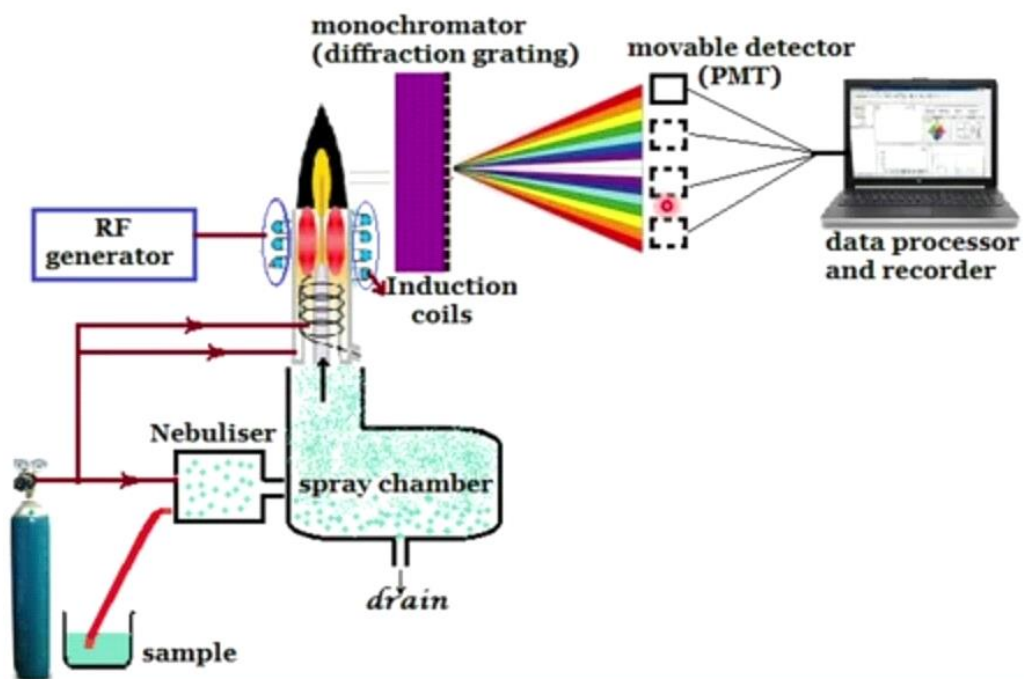


Figure 11: Schéma de l'appareillage d'un ICP-AES

3.3.1.2.Principe :

Un plasma à plus de 6 000°C

Le plasma est un gaz macroscopiquement neutre. Au sein du plasma où la température est entre 6 000°C et 8 000°C, le processus subit par l'aérosol est complexe : il y a d'abord désolvatation et vaporisation, puis dissociation des molécules et atomisation. L'énergie du champ magnétique créé par la bobine qui entoure la torche permet d'ioniser l'argon. Ce sont ces ions argon qui vont transmettre leur énergie aux atomes ainsi formés pour les exciter voire même les ioniser. En revenant à des niveaux d'excitation plus stables, les atomes et les ions ainsi obtenus émettent des photons qui sont caractéristiques de chacun des atomes constituant l'échantillon. Certains éléments dont l'énergie d'ionisation est trop élevée n'émettront que des raies atomiques. Chaque élément va émettre de nombreuses raies atomiques et parfois ioniques. Les spectres d'émission sont donc riches et complexes.[34]

Transformation de la solution liquide en aérosol :

Les échantillons peuvent uniquement entrer dans l'équipement ICP-AES sous forme liquide. La solution liquide à analyser est amenée par une pompe péristaltique dans un nébuliseur traversé par un courant d'argon où elle est transformée en aérosol ou spray (mélange de gaz, de gouttelettes et de particules). Cet aérosol est filtré dans une chambre: les plus grosses gouttes sont éliminées dans un drain et ne servent pas à l'analyse, les plus petites gouttes sont entraînées vers la torche et introduites dans le plasma d'argon.[34]

Quand le spray qui contient les éléments chimiques à mesurer entre en collision avec le plasma, ces éléments sont convertis en plasma. Les éléments sont soumis à une telle quantité d'énergie qu'ils se trouvent dans un état excité. Mais ces éléments sont dans un état instable dans cet environnement et ils préfèrent retrouver leur état fondamental à un niveau d'énergie inférieur. Quand cette transition se produit, les éléments émettent un rayonnement qui leur est propre. Ce rayonnement est détecté par le spectromètre et son intensité mesurée est parfaitement proportionnelle à la teneur de l'élément en question dans l'échantillon. Étant donné que chaque élément est associé à une série de longueurs d'onde qui lui sont caractéristiques dans le rayonnement émis.[35]

Spectromètre, ICP-AES ou ICP-OES :

Le spectromètre AES est une combinaison de miroirs, de prismes, de mono-chromateurs et de détecteurs qui contrôlent et mesurent le rayonnement émis.[35]

Un détecteur CCD qui permet de faire de la détection multi-éléments :

La lumière ainsi émise est dispersée et recueillie sur un détecteur qui transforme l'énergie lumineuse en signal électrique. L'instrument est équipé d'un détecteur type CCD (Dispositif à Couplage de Charge) de 70 000 pixels qui couvre une large gamme spectrale allant de 167 nm à 785 nm ce qui permet d'analyser tous les éléments allant du lithium à l'uranium (à quelques exceptions près). Ce détecteur est scellé et nécessite d'être refroidi à -35 °C.

Les intensités mesurées sont converties en concentration des éléments recherchés par comparaison avec les signaux obtenus sur des solutions étalons contenant des quantités connues de ces éléments.[34]

3.3.1.3. Avantages :

- Cette méthode est multi-élémentaire (analyse simultanée) ,en une seule mesure un grand nombre d'éléments d'intérêt peut être analysé (jusqu'à 73 éléments).Elle a donc peu à peu remplacé d'autres techniques comme l'absorption atomique ou la spectrophotométrie moléculaire qui sont mono-élémentaires et peu dynamiques.
- Elle présente une grande dynamique car la réponse du détecteur est pratiquement linéaire sur une très large gamme de concentration (de quelques ppm à plusieurs %).

Elle a donc peu à peu remplacé d'autres techniques comme l'absorption atomique ou la spectrophotométrie moléculaire qui sont mono-élémentaires et peu dynamiques.

- une sensibilité élevée.
- des interférences chimiques minimales.
- Cadence d'analyse la plus rapide.
- Tolère des matrices complexes.
- Faible consommation de gaz argon.[33]
- Sûr (aucun gaz inflammable).

3.3.1.4. Interférences :

Les principales difficultés rencontrées en ICP-OES sont les interférences. On appelle interférence tout phénomène en cause lorsqu'un analyte produit des signaux différents selon qu'il est contenu, à concentration identique, dans un échantillon ou dans une solution étalon.[26]. Elles sont de différents types :

- **Interférences physiques** sont dues essentiellement à la nature des solutions analysées : viscosité, tension superficielle, acidité, charge en sels dissous.

Par exemple : les différences de viscosité et de tension de surface entre l'échantillon et les solutions étalons peuvent être réduites par dilution de l'échantillon, ajustement de la matrice, utilisation d'étalons internes ou application de la méthode des ajouts dosés. Car une solution plus visqueuse sera plus difficile à nébuliser , donc on s'affranchit de ce problème en étalonnant l'appareil à l'aide d'étalons dans lesquels la matrice de l'échantillon a été reconstituée (même nature et même charge métallique et même acidité) et en utilisant un étalon interne ce qui a aussi l'avantage de permettre de s'affranchir de la dérive instrumentale.

-**Interférences optiques** sont dues au fait que deux éléments peuvent émettre à des longueurs d'onde proche. Les pics des deux éléments se chevauchent alors, et il est impossible de doser les éléments sur ces longueurs d'onde, s'ils sont tous les deux présents en solution. Il faudra choisir d'autres longueurs d'ondes pour réaliser le dosage. C'est un phénomène que l'on rencontre souvent dans des matrices complexes contenant de nombreux éléments d'alliage ou d'addition. Il est donc indispensable de bien sélectionner les longueurs d'onde sur lesquelles

les éléments vont être mesurés.[34]

-Interférences d'absorption :

lorsqu'une partie de l'émission de l'analyte est absorbée avant d'atteindre le détecteur. Cet effet est notamment observé lorsque la concentration d'un élément fortement émetteur est si élevée que les atomes ou les ions de cet élément qui se trouvent au plus faible niveau d'énergie absorbent une proportion significative du rayonnement émis par les espèces à l'état excité.

- Un autre type d'interférence parfois observé en SEA-ICP est l'effet dû aux éléments facilement ionisables, c'est-à-dire les éléments, tels que les métaux alcalins ou les alcalino-terreux, dont le passage à l'état ionisé est particulièrement facile ; leur présence dans l'échantillon à concentration élevée (plus de 0,1 pour cent) peut se traduire par une suppression ou au contraire une amplification des signaux d'émission.[26]

3.3.2.Spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) :

La spectrométrie de masse est une technique instrumentale d'analyse reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leur masse [5]. Elle est basée sur le couplage d'une torche à plasma générant des ions à partir des espèces élémentaires présentes dans un échantillon, des ions chargés qui sont ensuite dirigés vers un spectromètre de masse qui se comporte comme un filtre de masse en séparant les ions en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). La plupart des spectromètres de masse utilisent un système quadripolaire ou un secteur magnétique (figure 12/13).[26]

L'un des modes d'ionisation atomique les plus pratiques et efficaces est l'injection en plasma couplé par induction (Inductively coupled Plasma, ICP). Ce milieu presque totalement ionisé se forme grâce aux chocs que subissent, avec les électrons déjà arrachés, les atomes d'un gaz, dit plasmagène, en général de l'argon, sous l'action d'un rayonnement électromagnétique intense (de puissance proche de 1 500 W) et de haute fréquence (HF, ordinairement 27, 12 ou 40, 68 MHz). Ainsi la torche à plasma, dont la température se situe entre 5 000 K et 8 000 K [45], permet d'ioniser la quasi-totalité des éléments et son association à un spectromètre de masse constitue une technique d'analyse qualitative et quantitative multi-élémentaire dite Spectrométrie de Masse à Plasma Couplé par Induction, abrégée en ICP-MS.[5]

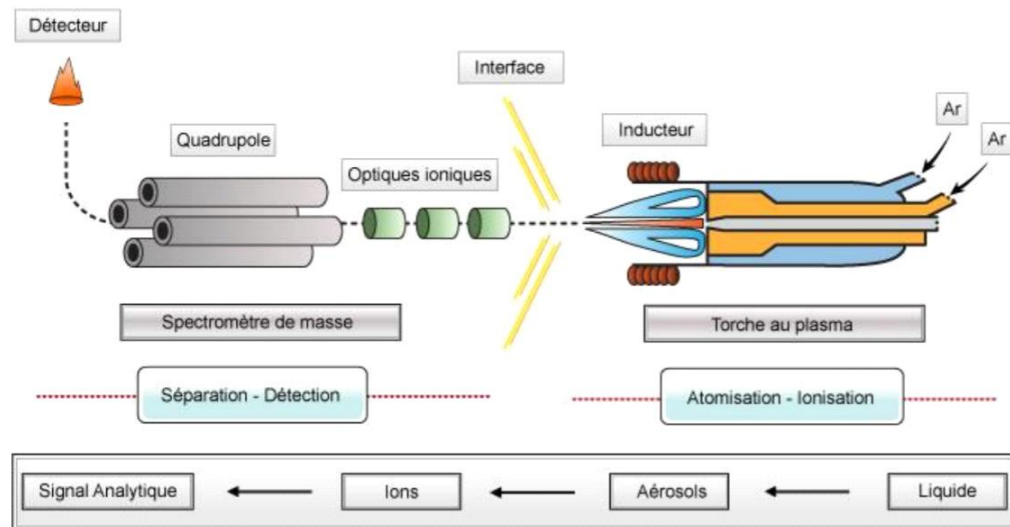


Figure 12: Schéma de l'appareillage d'un spectromètre de masse quadripolaire couplé à l'ICP

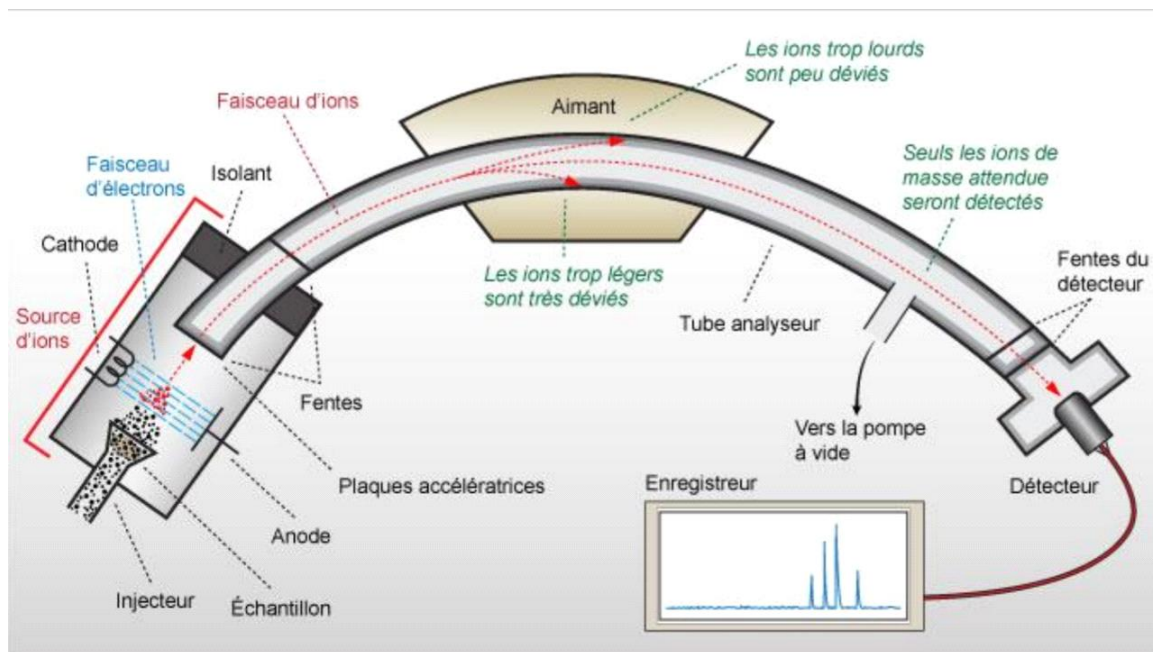


Figure 13: Schéma de l'appareillage d'un spectromètre de masse à secteur magnétique

3.3.2.1.APPAREILLAGE :

L'appareillage se compose pour l'essentiel des éléments suivants :

- un système d'introduction des échantillons constitué d'une pompe péristaltique délivrant la solution à débit constant à un nébuliseur,
- un générateur de radiofréquence (RF),
- une torche plasma,
- une zone d'interface constituée de cônes qui assurent le transport des ions vers l'optique ionique,
- un spectromètre de masse,
- un détecteur,
- une unité d'acquisition des données.[26]

3.3.2.2.Principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse quadripolaire à plasma à couplage inductif :

L'analyse des échantillons par ICP-MS peut être divisée en quatre étapes : introduction-nébulisation, ionisation, séparation en masse, détection.

L'échantillon est mis en solution. Un passeur automatique d'échantillons couplé à une pompe péristaltique introduit la solution dans une chambre de vaporisation où le nébuliseur la transforme en un aérosol liquide composé de micro-gouttelettes de quelques μm à l'aide d'argon gazeux. L'aérosol ainsi formé est envoyé dans une torche à plasma d'argon à très haute température (entre 6 000 et 10 000 °C), suffisante pour vaporiser, dissocier, atomiser et ioniser complètement la plupart des éléments.

Une partie de ce plasma (10%) est échantillonnée par un premier orifice de 1 mm de diamètre environ au sommet d'un cône en nickel ou en platine (« le sampler »), puis se détend sous l'effet du vide modéré (1—2 mbar) qui règne dans une chambre de pompage différentiel (qui permet de passer de la pression atmosphérique au vide secondaire du spectromètre de masse) et passe ensuite dans un deuxième orifice (« le skimmer »). Un système de vide différentiel accélère les ions du plasma vers un ensemble de lentilles électrostatiques qui extrait les ions chargés positivement et les transporte vers un filtre de masse quadripolaire. Cet ensemble de lentilles est aussi appelé lentille ionique.

Ce filtre de masse transmet seulement les ions présentant un rapport masse sur charge particulier, déterminé en fonction de la fréquence appliquée au quadripôle. Le principe du spectromètre est basé sur la séparation des éléments en fonction de leur charge et de leur masse. Les quatre barres cylindriques qui composent le spectromètre sont séparées en deux paires opposées et soumises à un courant continu (DC) et alternatif (RF). Les deux paires ont

des tensions continues opposées et des tensions alternatives de même amplitude et de signe opposé. Dans le plan formé par la paire positive les ions légers sont trop déviés et heurtent les barres. L'ion à analyser et ceux ayant une masse supérieure restent entre les deux barres. Dans ce plan le quadripôle joue le rôle de filtre passe-haut. Dans le plan de la paire négative, ce sont les ions lourds qui sont déviés, ce qui équivaut à un filtre passe-bas. En combinant ces deux filtres, seuls les ions ayant le rapport m/z (masse/charge) désiré seront transmis au détecteur.

La partie détection s'effectue grâce à un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes. Pour la détection des ions positifs, une série de dynodes est soumise à une tension négative de quelques milliers de volts. L'extrémité de la série de dynodes est reliée à la terre. A la sortie du quadripôle, un ion positif, attiré par la tension négative, heurte la surface semi-conductrice de la première dynode. Cet ion positif provoque l'émission d'un ou de plusieurs électrons secondaires qui heurtent à nouveau la paroi de la deuxième dynode : un effet « boule de neige » se produit. A l'extrémité de la série de dynodes, pour un ion qui heurte le détecteur, environ 100 électrons atteignent un collecteur équipé d'un préamplificateur. Le signal se traduit en nombre d'impulsions (nombre de coups), une interface informatique assure le transfert des données afin qu'elles soient traitées. Pour un isotope donné, le nombre d'ions mesuré permet de calculer directement la concentration de l'élément analysé grâce à un logiciel de traitement quantitatif et qualitatif de l'enregistrement. Les nombres de coups sont convertis en concentrations grâce à l'utilisation de deux types de calibrations : externe (solutions étalon) et interne (spikes).[36]

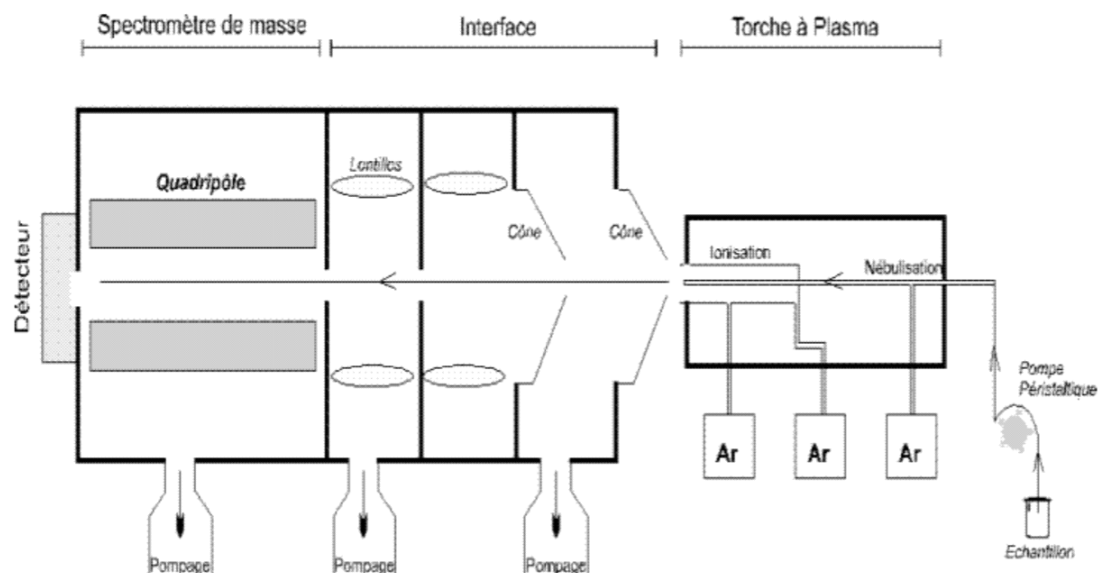


Figure 14 : Schéma du principe de fonctionnement de l'ICP-MS quadripolaire

3.3.2.3. Avantages :

- Analyse multi-élémentaire
- Technique la plus sensible (allant jusqu'au ng/L et même au-delà), qui dans bien des cas permet d'opérer sur des échantillons de faible volume dont la préparation se réduit à une simple dilution préliminaire en milieu acide nitrique, ce qui peut suffire à éliminer les effets de matrice si la dilution est très haute .
- une très large gamme d'applications (presque tous les éléments, les exceptions étant les non-métaux stricts et les gaz rares) .
- une très bonne reproductibilité, les dérives ou fluctuations dues au plasma étant corrigées par l'introduction systématique d'éléments étalons internes non interférents .
- aa rapidité (en série, le temps d'analyse pouvant atteindre 1 à 2 min par échantillon), ce qui autorise par exemple les méthodes d'ajouts dosés en série, aussi bien que les couplages avec des appareils de chromatographie ou d'électrophorèse .
- Sa spécificité .
- Son exceptionnelle gamme dynamique linéaire (108 voire 109) en mesures d'intensités ou en comptage d'ions. A ces qualités s'ajoute la possibilité de mesure de rapports d'abondances isotopiques, difficilement accessibles par les spectrométries optiques (presque uniquement en Infrarouge) mais extrêmement utiles dans nombre de domaines comme celui du contrôle qualité pharmaceutique.
- Tolère des matrices complexes. [36]

3.3.2.4. interférences :

3.3.2.4.A. Interférences spectrales :

-isobariques :

Le problème majeur rencontré en SM-ICP est l'interférence de masse, due par exemple à des espèces isobares qui ne peuvent pas être séparées par le filtre de masse , donc elles se superposent au signal des ions étudiés et perturbent significativement la mesure.

-polyatomiques ou moléculaires :

Elles sont dues à la combinaison de plusieurs ions atomiques générant des ions polyatomiques qui créent une interférence avec le rapport masse/charge de l'élément analysé.

solutions : - Choix d'un isotope non interféré

- Elimination de la matrice

3.3.2.4.B. interférences physiques (matricielles) :

interviennent également pour certains analytes et la composition des échantillons peut affecter la formation des gouttelettes ou la température d'ionisation dans le plasma. Ces phénomènes peuvent aller jusqu'à la suppression des signaux dus à l'analyte. Il est possible d'éviter les interférences physiques en utilisant un étalon interne ou la méthode des ajouts dosés. [26]

3.3.2.4.C. Interférences liées aux ions doublement chargés :

Interférence générée par un isotope appartenant à un autre élément que l'analyte, mais de rapport masse sur charge divisé par deux du fait de la double ionisation.

Exemple : $^{138}\text{Ba}^{2+}$ $^{69}\text{Ga}^{+}$

$^{158}\text{Gd}^{2+}$ $^{79}\text{Se}^{+}$

- Technique la plus chère (coûts de fonctionnement et d'achat)
- il est gros consommateur d'argon ultra pur et d'électricité
- Moins de tolérance aux matrices que l'ICP-AES.[33]

4-VALIDATION DE LA MÉTHODE :

Est une étape indispensable permettant de garantir l'obtention d'un résultat aussi proche que possible de la valeur vraie de référence d'un échantillon ; sachant qu'il existe plusieurs approches de validation tel que l'ICHQ2R1 ; la FDA ; la SFSTP... ; et la plus parts des pays Francophone utilise l'approche de la SFSTP . Dans le texte suivant nous allons suivre le protocole de la sfstp2003 ; l'ensemble de la démarche pour obtenir l'outil de décision appelé profil d'exactitude ; Elle repose sur le concept d'erreur total (biais + écart type) permettant de faciliter la prise de décision tout en minimisant le risque associé à l'utilisation de la méthode analytique validée.

4.1-Spécificité :

Une procédure analytique est dite spécifique lorsqu'elle permet de garantir que le signal mesure provient seulement de la substance à analyser. L'étude de la spécificité nécessite la préparation et l'analyse des solutions suivantes : standards d'étalonnages et standards de validation et après on compare la droite obtenu par la gamme d'étalonnage et la gamme obtenu par la gamme de validation à partir **de test de student**

$$\text{Calculé} = \frac{|a_1 - a_2|}{\sqrt{\sigma_{a_1}^2 + \sigma_{a_2}^2}}$$

- a_1 et a_2 : pentes respectives des droites de régression D1 (obtenue à partir de standard d'étalonnage) et D2 (obtenue à partir de standard de validation).
- $\sigma_{a_1}^2$ et $\sigma_{a_2}^2$: variances respectives des pentes a_1 et a_2 .
- α : risque d'erreur acceptée (5%).

- n1 et n2 : nombre d'échantillon réalisé pour la forme standard et la forme placebo chargé.
- n1 + n2 - 4 : degré de liberté (ddl).

La valeur du t calculé est comparée à la valeur t° (α ; n1 + n2 - 4) lue sur la table de Student.

- Si t calculé < t° → les pentes sont comparables $\Leftrightarrow$ pas d'effet matrice donc la méthode est Spécifique.
- Si t calculé > t° → les pentes ne sont pas comparables $\Leftrightarrow$ la méthode n'est pas spécifique.

4.2-Fonction de réponse :

Une fois les expériences réalisées et les données collectées, il convient tout d'abord de déterminer sur la base des standards d'étalonnage (SE), la relation entre la réponse (signal ou réponse de l'instrument) Y et la quantité (concentration) X. Cette relation se caractérise à l'aide d'une fonction f qui doit être strictement monotone (strictement croissante ou décroissante) sur l'intervalle de dosage envisagé: $Y = f(X) + \varepsilon$; ε est l'erreur associée à la fonction de réponse f appelée communément erreur résiduelle. Il faut donc ajuster la fonction de réponse, c'est-à-dire évaluer les paramètres du modèle, de manière à ce que l'erreur résiduelle soit minimisée. Deux familles de fonctions se dégagent de cet ensemble : les fonctions dites linéaires en leurs paramètres et les fonctions non Linéaires. Une fonction est dite linéaire si elle est une combinaison linéaire de ses paramètres. Différentes fonctions de réponse peuvent être envisagées lors de la validation de la méthode, comme illustré par le tableau XIII Le choix dépend du type de méthode (méthode physicochimique, bio analytique, immuno- dosage).

Type	Equation	Paramètres	Linéarité
Droite passant par l'origine	$Y = \beta X$	β	Oui
Droite	$Y = \alpha + \beta X$	α, β	Oui
Fonction quadratique	$Y = \alpha + \beta X + \gamma X^2$	α, β, γ	Oui
Fonction logistique à 4 paramètres	$Y = \alpha + \frac{\sigma - \alpha}{1 + (\frac{X}{\gamma})^\beta}$	$\alpha, \beta, \gamma, \delta$	Non
Fonction logistique à 5 paramètres	$Y = \alpha + \frac{\sigma - \alpha}{[1 + (\frac{X}{\gamma})^\beta]^\psi}$	$\alpha, \beta, \gamma, \delta, \psi$	Non

Tableau 15 : Exemples de fonction de réponses.

La plupart des méthodes physico-chimiques auront recours à la droite (passant par 0 ou non.

4.3-justesse :

La justesse (ou le biais) de la méthode au niveau de concentration est obtenue en calculant la différence entre la moyenne arithmétique des concentrations introduites et la moyenne des concentrations calcule ; L'estimation de la justesse de la méthode s'effectue avec les

concentrations calculées provenant des standards de validation. La justesse donne une indication sur les erreurs systématiques. Le biais peut s'exprimer en termes absolu, relatif ou de recouvrement par rapport aux quantités introduites, comme suit :

$$Biais_j = \hat{u}_j - \bar{x}_j$$

$$Biais \left(\frac{100}{100} \right)_j = 100 \times \frac{\hat{u}_j - \bar{x}_j}{\bar{x}_j}$$

$$Recouvrement \left(\frac{100}{100} \right)_j = 100 \times \frac{\bar{x}_j}{\hat{u}_j}$$

Où :

$\hat{u}_j$: Moyenne des concentrations calculées du niveau j

$\bar{x}_j$: Moyenne des concentrations introduites au niveau j

4.4-Fidélité :

Exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites. Elle donne des informations sur l'erreur aléatoire et est évaluée à deux niveaux : la répétabilité et la fidélité intermédiaire. la fidélité peut être exprimée en écart type σ et en terme de coefficient de variation (cv)

$$Cv = \frac{\sigma}{\bar{m}_j} \quad \sigma = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{m})^2}{n-1}}$$

Avec :

$\bar{m}$: Moyenne de la série

n : nombre de répétition

Répétabilité : conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai identiques dans le même laboratoire ; par le même opérateur ; utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps.

Fidélité intermédiaire : exprime la variabilité intra-laboratoire : jours différents-analystes différents équipements différents- ; etc.....

L'estimation de la variance intra-série donne une estimation de la variance de répétabilité tandis que la somme des estimations des variances intra- et inter série donne une estimation de la variance de fidélité intermédiaire :

$$\text{Répétabilité : } \hat{\sigma}_{re}^2 = \hat{\sigma}_w^2$$

$$\text{Fidélité intermédiaire : } \hat{\sigma}_{ip}^2 = \hat{\sigma}_w^2 + \hat{\sigma}_B^2$$

4.5-La limite de détection (LD) et de quantification (LQ) :

LD : est la plus petite quantité d'analyte qui peut être détectée mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte

$LD=3\sigma/S$ Avec σ : Écart type S : pente

LQ : quantité la plus faible d'analyte dans un échantillon qui peut être déterminée quantitativement avec une fidélité et une exactitude appropriée .

$LD=10\sigma/S$

Intervalle de dosage

Intervalle est compris entre la concentration (quantité) la plus élevée et la plus faible de l'échantillon dans lequel il a été démontré que la méthode d'analyse présente une fidélité, une exactitude et une linéarité satisfaisante.

Exactitude :

L'exactitude est l'expression de la somme de la justesse et de la fidélité donc l'erreur totale = erreur systématique+ erreur aléatoire

$$= \text{Biais} + \text{écart type}$$

4.6-Profil d'exactitude :

Cette nouvelle stratégie de validation permet d'associer les deux éléments qui sont la justesse et la fidélité. Le principe de cette stratégie peut être traduit par l'équation suivante :- $\delta < x - u < \delta \rightarrow |x - u| < \delta$ **eq1**

La notion de la limite d'acceptation introduit donc un premier critère permettant à l'analyse de prendre des décisions base sur l'objectif de la méthode analytique. Elle doit être fixée en fonction des exigences règlementaires et en fonction des performances de la méthode.

Communément ; la limite d'acceptation est de 1/100 ou 2/100 pour les formes pharmaceutiques et de 15/100 pour les matrices biologiques ou environnementales. Pour apporter les garanties que l'eq1 soit vérifiée ; il faut que la probabilité que $|x - u| < \delta$ soit supérieur ou égale à une valeur minimale β

$$\Pr (|x - u| < \delta) \geq \beta$$

4.7-Calcul de l'intervalle de tolérance :

Ce qui nous importe cependant en validation, ce n'est pas la validité des résultats obtenus que nous obtenons avec l'Erreur Totale, mais plutôt la garantie ou une représentation de ce

que la même procédure analytique pourra donner comme résultats dans le futur, C'est le rôle de l'intervalle de Tolérance.

L'intervalle de tolérance sera calculé pour chaque niveau de concentration envisagé avec les standards de validation. L'intervalle de tolérance se calcule comme suit en valeur absolue :

$$R_j = \frac{\hat{\sigma}_{B,j}^2}{\hat{\sigma}_{w,j}^2}$$

$$B_j = \sqrt{\frac{R + 1}{nR_j + 1}}$$

$$v = \frac{(R + 1)}{\frac{(R+1/2)}{p-1} + \frac{1-1/n}{pn}}$$

$$Q_t \left(v; \frac{1 + \beta}{2} \right)$$

Avec :

n : nombre de répétitions ;

P : nombre de séries.

$$\left[\text{biais}(\%)_j - Q_t \left(v; \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{pnB_j^2} CV_{FI,j}}; \text{biais}(\%)_j + Q_t \left(v; \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{pnB_j^2} CV_{FIj}} \right]$$

4. 8- Profil d'exactitude et décision :

Les bornes de ces intervalles sont :

$$L_j = \text{biais}(\%)_j - Q_t \left(v; \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{pn\beta_j^2} CV_{FI,j}}$$

$$U_j = \text{biais}(\%)_j + Q_t \left(v; \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{1}{pn\beta_j^2} CV_{FI,j}}$$

Le profil d'exactitude de la méthode s'obtient en reliant d'une part les bornes L_j

Entre elles ($L_1 \rightarrow L_2 \rightarrow \dots \rightarrow L_m$) et d'autre part les bornes U_j entre elles ($U_1 \rightarrow U_2 \rightarrow \dots \rightarrow U_m$). La méthode peut dès lors être considérée comme valide au niveau de chance β pour le niveau de concentration en question, si l'intervalle de tolérance est incluse dans les limites $[-\gamma, \gamma]$ définies a priori en fonction des objectifs de la méthode.[37]

4.9-Choix de protocole de validation :

La figure 15Présente les démarches proposées dans le guide SFSTP 2003 pour sélectionner un protocole expérimental de validation en fonction des contraintes ou des spécificités liées à la procédure de dosage sous épreuve.

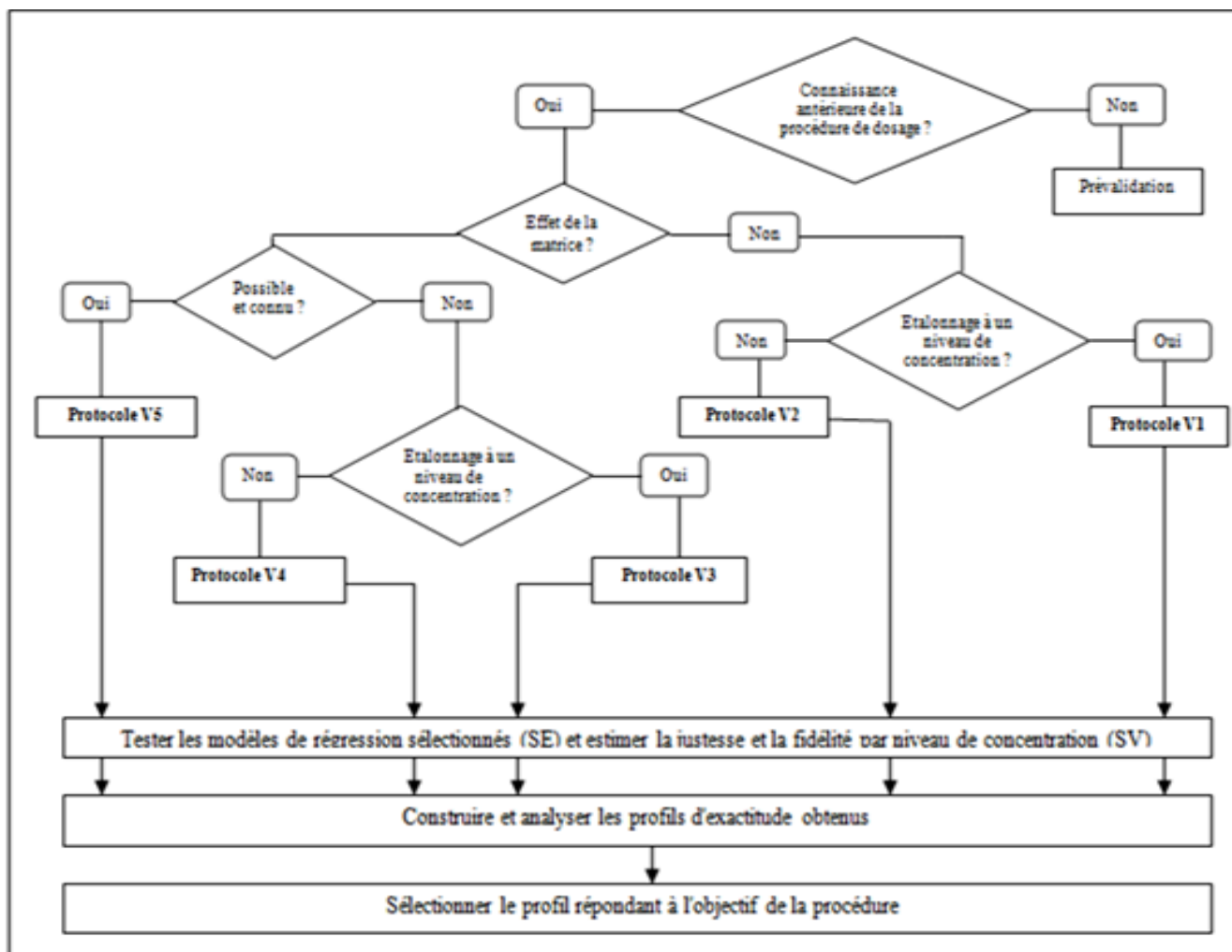


Figure15 : logigramme permettant de sélectionner un protocole de validation.

Une phase de pré validation est conseillée s'il y a absence d'informations pertinentes obtenues lors du développement ou d'une connaissance particulière de l'analyste sur les performances de la procédure. En revanche, si ces informations sont disponibles, il est tout d'abord recommandé de s'interroger sur la présence ou l'absence d'un effet de la matrice. Selon cet effet de matrice, le protocole sera choisi.

Standards	Niveaux de concentration	Protocole				
		V1	V2	V3	V4	V5
SE : Etalonnage sans la matrice	Bas		2		2	
	Median	2	2	2	2	
	Haut	2	2	2	2	
SE : Etalonnage avec matrice	Bas				2	2
	Médian			2	2	2
	Haut			2	2	2
	Addit					2
SV : Validation avec matrice	Bas	3	3	3	3	3
	Médian	3	3	3	3	3
	Haut	3	3	3	3	3
Nombre minimum de séries			3	3	3	3
Nombre total d'essais (min)		33	45	39	63	45

Tableau16: Choix du nombre de standards d'étalonnage et de validation en fonction du protocole choisi. (SFSTP 2006).

Exemple : validation d' une méthode de dosage du cuivre dans les urines par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique flamme (SAAF) selon les directives de la commission de la société française des sciences techniques et pharmaceutiques (SFSTP) décrivant un protocole de validation harmonisé, publié dans la revue STP Pharma pratique en janvier 2006.

1-Etape de prevalidation :

On prépare chaque jour, Pendant 03 jours, deux gammes d'étalonnage :

- * Une dans l'eau pure acidifiée (0,5%)
- * L'autre dans un pool d'urine de 24h.

Les résultats obtenus après analyses sont les suivants :

*** Jour 1 :**

Concentrations (ppm)	Absorbances	
	eau	Urine
0,02	0,007	0,006
0,1	0,0199	0,036
0,2	0,0505	0,0797
0,3	0,0732	0,11
0,5	0,1102	0,171

Tableau 17 : résultats des gammes d'étalonnage du J1

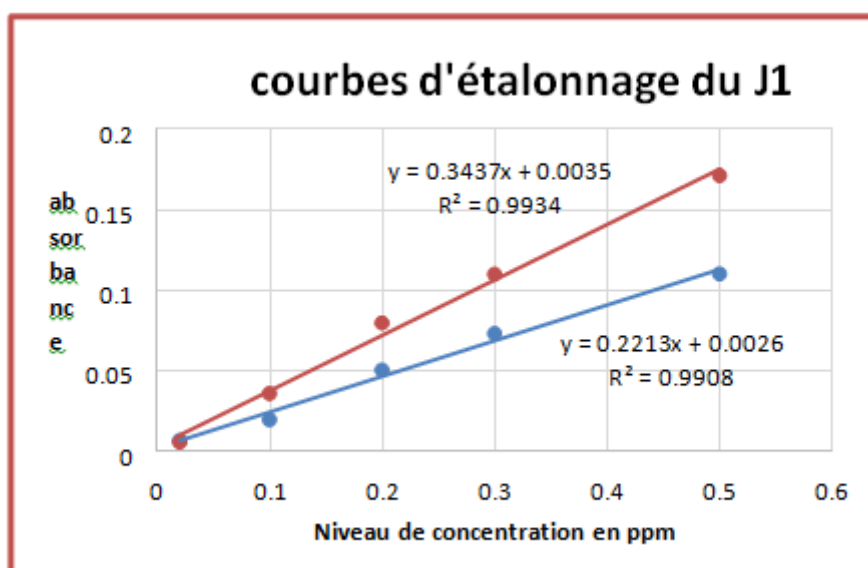


Figure16 : Les courbes d'étalonnage du premier jour

* Jour 2 :

Tableau18 : résultats des gammes d'étalonnage du J2

Concentration (ppm)	Absorbances	
	eau	urine
0,02	0,019	0,01
0,1	0,0324	0,0525
0,2	0,07	0,1073
0,3	0,1017	0,1463
0,5	0,1622	0,245

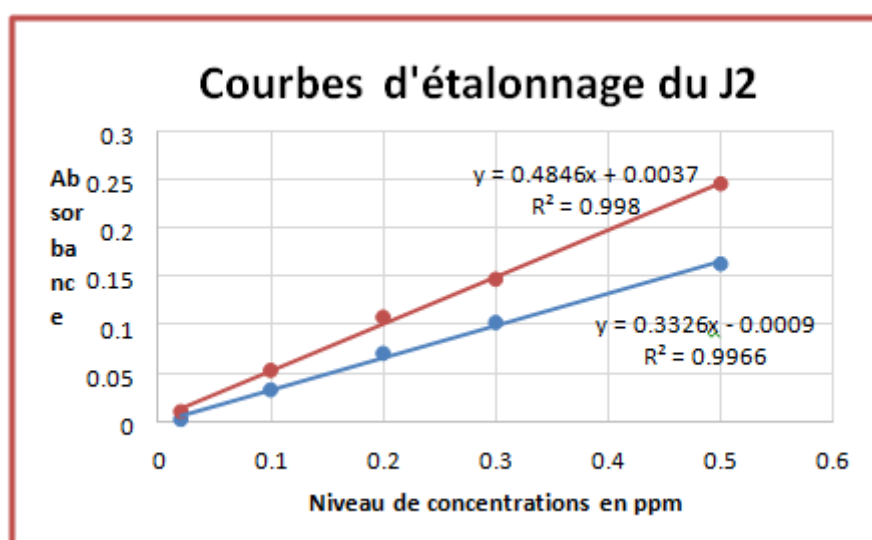


Figure17: Les courbes d'étalonnage du deuxième jour

*** Jour 3 :**

Tableau19: Résultats des gammes d'étalonnage du J3

Concentrations (ppm)	Absorbances	
	eau	urine
0,02	0,0061	0,0139
0,1	0,02	0,0463
0,2	0,0413	0,0968
0,3	0,08	0,1633
0,5	0,15	0,2831

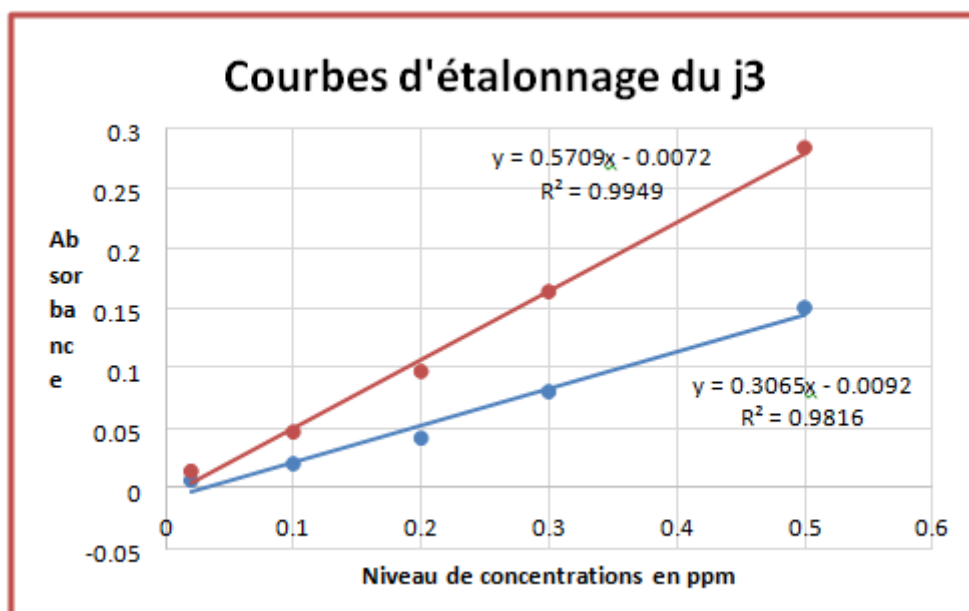


Figure18: Les courbes d'étalonnage du troisième jour

* Calcul des moyennes des 03 jours

Tableau20: les moyennes des résultats des trois jours

Concentrations (ppm)	Absorbances	
	Moyennes eau	Moyennes urine
0,02	0,005	0,0099
0,1	0,0241	0,04493
0,2	0,0539	0,0946
0,3	0,0849	0,1398
0,5	0,1408	0,233

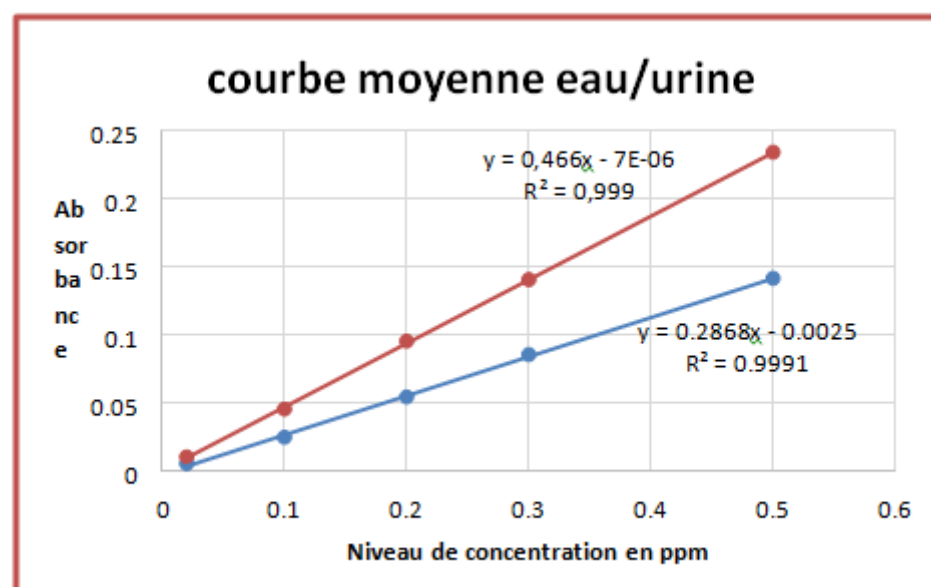


Figure19: La courbe des résultats obtenus durant les trois jours.

Tableau21 : valeurs de la pente et des ordonnées à l'origine obtenu par les courbes moyenne.

Courbes d'étalonnage moyenne	Eau	Urine
la pente (a)	0,286	0,466
Ordonnés à l'origine (b)	-0.0025	-7E -06

Réalisation d'un test de Student pour la recherche d'erreur systématique et d'un éventuel effet matrice : avec :

5% : erreur permise = 0,05 (5%)

n : Nombre de manipulation (=30)

(α): Risque

$s^2(b1)$: Variance des ordonnées à l'origine de la droite D1

$s^2(b2)$: Variance des ordonnées à l'origine de la droite D2

$s^2(a1)$: Variance de la pente a1 de la droite D1

$s^2(a2)$: Variance de la pente a2 de la droite D2

Tableau22 : Comparaison des ordonnées à l'origine b1 et b2

$s^2(b1)$	0,00003588
$s^2(b2)$	0,00012275
$s^2(b1) + s^2(b2)$	0,00015863
$ b1 - b2 /\sqrt{s^2(b1) + s^2(b2)}$	tcalculé0,19786097 < t table($\alpha=5\%$, n-4 = 26) = 2,05

Comparaison de l'ordonnées à l'origine b1 et b2 :

Le t calculé est comparé à la valeur seuil au risque α de la loi de Student (voire table de student) à un n-4 degré de liberté (ddl) .

Le t calculé < t table (0.05, 26) donc les deux ordonnées à l'origine b1 et b2 sont pas significativement différentes, cela implique l'absence d'erreurs systématiques.

Tableau23: Comparaison des pentes a1 et a2

$s^2(a1)$	0,0004596
$s^2(a2)$	0,00157207

$s^2(a1) + s^2(a2)$	0,00203167
$ a1 - a2 /\sqrt{s^2(a1) + s^2(a2)}$	tcalculé3,98431224 > t table ($\alpha = 5\%$, $n-4 = 26$) = 2,05

Comparaison des pentes a1 et a2

Le t calculé > t table (0.05, 26) (**table de student**) ce qui implique que les deux pentes ne sont pas comparables, donc les deux courbes ne sont pas superposables, présence d'un éventuel effet matrice.

Conclusion

La comparaison des pentes des deux courbes par le test de Student, montre une existence d'un effet matrice. De ce fait, la validation de notre technique va suivre le protocole V5 du protocole de validation SFSTP 2003-2006.

$1 - \alpha$	75 %	80 %	85 %	90 %	95 %	97,5 %	99 %	99,5 %	99,75 %	99,9 %	99,95 %
k											
1	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,71	31,82	63,66	127,3	318,3	636,6
2	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	14,09	22,33	31,60
3	0,765	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	7,453	10,21	12,92
4	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	5,598	7,173	8,610
5	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	4,773	5,893	6,869
6	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	4,317	5,208	5,959
7	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	4,029	4,785	5,408
8	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	3,833	4,501	5,041
9	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	3,690	4,297	4,781
10	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	3,581	4,144	4,587
11	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	3,497	4,025	4,437
12	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	3,428	3,930	4,318
13	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	3,372	3,852	4,221
14	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	3,326	3,787	4,140
15	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	3,286	3,733	4,073
16	0,690	0,865	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	3,252	3,686	4,015
17	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,222	3,646	3,965
18	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,197	3,610	3,922
19	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,174	3,579	3,883
20	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,153	3,552	3,850
21	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,135	3,527	3,819
22	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,119	3,505	3,792
23	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,104	3,485	3,767

Tableau45 : tableau de student

2- validation :

2.1 Fonctions de réponse

Un protocole V5 de la nouvelle approche SFSTP 2003-2006 a été retenu du fait de l'existence de l'effet matrice. Pour la gamme d'étalonnage, on prépare chaque jours, pendant 03 jours, une gamme d'étalonnage dans un pool d'urine de 24h, nous avons utilisés cinq niveaux de concentrations pour établir les droites d'étalonnage : 0.02ppm ; 0.1ppm ; 0.2ppm; 0.3ppm et 0.5ppm. Pour le standard de validation nous avons choisis trois niveaux 0.050ppm, 0.150ppm et 0.4 ppm avec trois répétitions sur trois jours.

Jour 1 :

Tableau 24: Gamme d'étalonnage de la solution du cuivre dans la matrice (1erjour)

Concentration théorique (ppm)	Absorbance
0,02	0,0099
0,1	0,0384
0,2	0,0806
0,3	0,118
0,5	0,1738

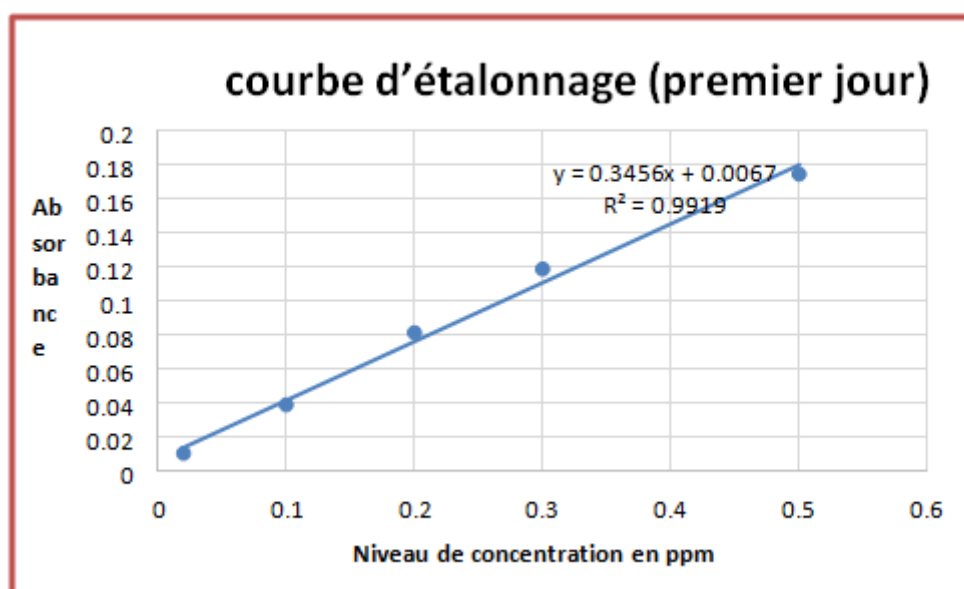


Figure 20 : courbe d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (1erjour)

Tableau25 : Résultats de la gamme de standard de validation



Concentrations en ppm	Repetitions	Absorbance	Concentrations calculées (ppm)
0,05	R1	0,0242	0,05063657
	R2	0,0234	0,04832176
	R3	0,026	0,05584491
0,15	R1	0,0517	0,13020833
	R2	0,055	0,13975694
	R3	0,052	0,13107639
0,4	R1	0,16	0,44357639
	R2	0,15	0,4146412
	R3	0,156	0,43200231

Jour 2 :

Tableau26 : Gamme d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (2ème jour)

Concentration en ppm	Absorbance
0,02	0,006
0,1	0,036
0,2	0,0691
0,3	0,1035
0,5	0,17

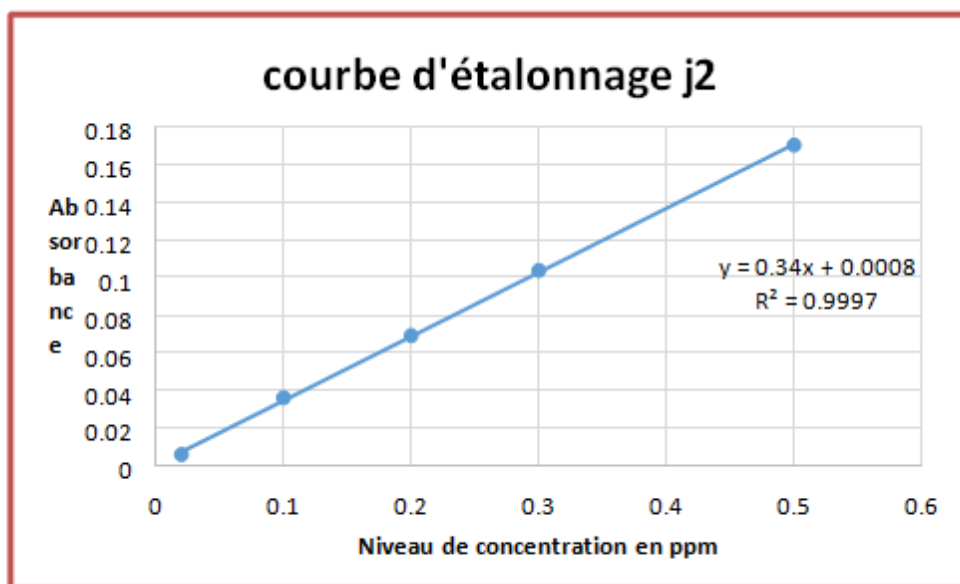


Figure21 : courbe d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (2 ème jour)

Tableau27: Résultats de la gamme de standard de validation (2ème jour)

Concentrations en ppm	Repetitions	Absorbance	Concentrations calculées (ppm)
0,05	R1	0,015	0,041764706
	R2	0,017	0,047647059
	R3	0,018	0,050588235
0,15	R1	0,0467	0,135
	R2	0,0476	0,137647059
	R3	0,048	0,138823529
0,4	R1	0,1214	0,354705882
	R2	0,12	0,350588235
	R3	0,1205	0,352058824

Jour 3 :

Tableau28: Gamme d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (3em jour)

Concentrations théorique	Absorbance
0,02	0,0105
0,1	0,0383
0,2	0,0698
0,3	0,098
0,5	0,154

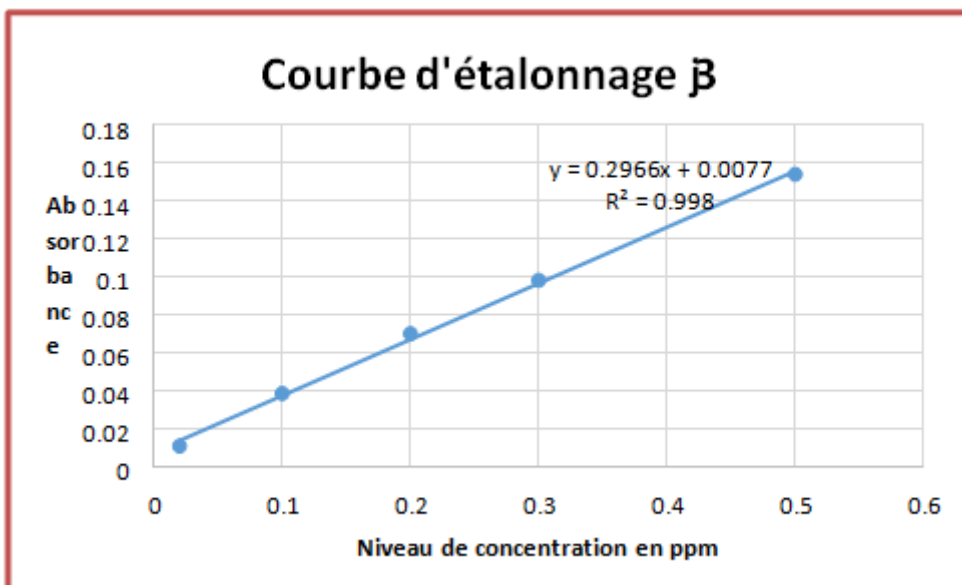


Figure22: courbe d'étalonnage de la solution de cuivre dans la matrice (3em jour)

Tableau29 : Résultat de la gamme de standard de validation 3em jour

Concentrations en ppm	Repetitions	Absorbance	Concentrations calculées (ppm)
0,05	R1	0,02	0,041469993
	R2	0,025	0,058327714
	R3	0,021	0,044841537
0,15	R1	0,0477	0,134861767
	R2	0,0491	0,139581929
	R3	0,0549	0,59238031
0,4	R1	0,1425	0,454484154
	R2	0,1363	0,43358058
	R3	0,1309	0,415374241

2.2 Calcul de la limite de détection et de quantification :

-Limite de détection (LD) :

On utilise la méthode d'exploitation de valeurs chiffrées :

*Effectuer à mesures de blancs d'analyse indépendamment $n \geq 6$

*Calculer l'écart type

$$LD = 3 \cdot \sigma / S$$

Avec σ : Écart type

S : pente

- Limite de quantification (LQ) :

Les procédures sont les mêmes que celles de la limite de détection.

Elle est estimée par :

$$LQ = 10 \cdot \sigma / S$$

Résultats :

Tableau30: Absorbances d'une série de six blancs d'analyse.

N blanc	Absorbance
1	0,0003
2	0,0012
3	0,0013
4	0,0006

5	0,0018
6	0,0007
Ecart type σ	0.00054924
LD = $3\sigma/a$	LD=0, 00503276 ppm
LQ= $10.\sigma/a$	lQ=0,01677587 ppm

2.3 Mesure de la justesse :

On effectue trois séries de standards de validation distribuées sur trois jours en parallèle avec les solutions étalons, neuf mesures au total sont effectuées pour chaque niveau de concentration k à raison de trois répétitions par jour, la moyenne des concentrations calculées a été retenue pour chaque niveau k

Tableau31 : concentrations calculées des standards de validation

Series	Niveau de Concentration k (ppm)	R1	R2	R3	Moyenne / J	Moyenne / N
J1	0.05	0,0506	0,0483	0,0558	0,0516	0,0488
J2		0,0417	0,0476	0,0506	0,0466	
J3		0,0414	0,0583	0,0448	0,0482	
J1	0.15	0,1302	0,1398	0,1310	0,1337	0,1439
J2		0,1350	0,1376	0,1880	0,1535	
J3		0,1348	0,1395	0,1592	0,1445	
J1	0.4	0,4435	0,4146	0,4320	0,4300	0,4056
J2		0,3547	0,3506	0,3521	0,3524	
J3		0,4335	0,4153	0,4544	0,4344	

La justesse de la méthode peut s'exprimer en termes de :

- Biais absolu = $u_k^j - x_k$

-Biais relatif :

$$\text{Biais (100/100)} = 100 \times \frac{u_k^j - x_k}{x_k}$$

- Le recouvrement :

$$\text{Recouvrement(\%)} = 100 \times x_k / u_k^j$$

x_k La concentration théorique de chaque niveau de concentration

U_{jk} : moyenne des concentrations retrouvées de chaque niveau de concentration k par jour j

La justesse a été estimée au moyen des standards de validation dans la matrice (urines) à trois niveaux de concentration (0.05 ppm, 0.15 ppm, 0.4 ppm).

Tableau32: Résultats de la justesse des standards de validations

Concentrations théoriques (ppm)	Concentrations retrouvées (ppm)	Moyennes des concentrations retrouvées (ppm)	Biais absolu		Biais Relatif%		Recouvrement%	
0.05	0.0516	48.79	0.0016	-0,0012	3.1333	-2.4267	103.1333	97.5733
	0.0466		-0.0034		-6.7467		93.2533	
	0.0482		-0.0018		-3.6667		96.3333	
0.15	0.1337	143.89	-0.0164	-0.061	-10.9	-4.0704	89.1	95.9296
	0.1535		0.0035		2.3556		102.3556	
	0,1445		-0.0055		-3.6667		96.3333	
0.4	0.43	405.63	0.03	0.0056	7.5083	1.4064	107.5083	101.4064
	0.3524		-0.0476		-11.8892		88.1108	
	0.4344		0.0340		8.60000		108.60	

Interprétation :

Les taux des recouvrements (sa valeur cible est 100%) des trois standards de validation varient entre 88,11 % et 108,6 %. Donc ils sont inclus dans la limite d'acceptabilité ; Leurs biais relatif moyen (sa valeur cible est zéro) est égal à : -1.6969 % ce qui est largement acceptable (inclus dans les limites d'acceptabilités ($\pm 20\%$)). Après calculs du recouvrement et du biais, nous pouvons conclure que la technique est juste.

2.4 Mesure de la fidélité :

L'estimation de la variance intra-série donne une estimation de la variance de répétabilité tandis que la somme des estimations des variances intra- et inter-série donne une estimation de la variance de fidélité intermédiaire. La fidélité est mesurée à partir des écart-types (ou variances) des résultats d'essais pour un ou plusieurs niveaux de concentration, ceci permet de calculer le coefficient de variation, donné par :

$$CV = \text{écart type} / \text{moyenne} * 100$$

Pour les trois niveaux de concentration 0,05ppm, 0.15 ppm et 0.4ppm, des analyses sont effectuées à raison de trois fois pour chaque série (J1, J2, J3). Les absorbances obtenues nous ont servi pour le calcul du coefficient de variation (CV) :

- CV intragroupe : à partir des absorbances du même jour
- CV intergroupe : à partir des absorbances des trois jours.

Les valeurs obtenues sont rapportées dans le Tableau :

Tableau33: mesure des coefficients de variation intra et inter groupe

Concentration		0.05ppm	0.15ppm	0.4ppm	Moyenne de cv
Intragroupe					
J1	Ecart type	0.0038	0.0053	0.0146	4.9329
	Moyenne	0.0516	0.1337	0.43	
	Cv (100/100)	7.4511	3.9640	3.3835	
J2	Ecart type	0.0045	0.0299	0.0021	9.9149
	Moyenne	0.0466	0.1535	0.3524	
	Cv (100/100)	9.6925	19.4598	0.5924	
J3	Ecart type	0.0089	0.0129	0.0196	10.6737
	Moyenne	0.0482	0.1445	0.4344	
	Cv de répétabilité (100/100)	18.5582	8.9589	4.5040	
Moyenne de cv		11.9006	10.7942	2.8266	8.7052
Ecart type de répétabilité (sr)		0.062	0.0190	0.0141	
Inter groupe					
Ecart type		0.0025	0.01	0.0461	7.8224
Moyenne		0.0488	0.1439	0.4056	
Cv De fidélité intermédiaire		5.1811	6.9186	11.3674	
Ecart type inter série (sB)		0.00	0.00	0.0454	
Ecart type (sFi)		0.0062	0.0190	0.0475	

Le coefficient de répétabilité (=8.5071 %) et le coefficient de fidélité intermédiaire(=7.8223%) sont conformes aux limites fixés (<20%).

2.5 Etablissement du profil d'exactitude :

- Calcul de l'intervalle de tolérance :

Tableau34 : Le tableau suivant est un récapitulatif pour les paramètres qui servent à l'établissement du profil d'exactitude de notre méthode de dosage.et les limites supérieur et inferieur :

Concentration	Rapport des variances (R)	Coefficient B^2	Nombre de degrés de liberté	probabilité -té tolérance (bêta) %	T Student -t bas	T Student haut	Facteur de couverture (qIT)	Ecart-type de tolérance (sIT)	Limite de tolérance basse (ppm)	Limite de tolérance haute (ppm)	
0.05	0	1	7.7143	70	1.1192	1.1081	1.1113	1.1113	0.0415	0.0560	
0.15	0	1	7.7143	70	1.1192	1.1081	0.0065	0.0201	0.1216	0.1692	
0.4	10.3168	0.3542	2.2553	70	1.3862	1.2498	1.3514	0.0545	0.3320	0.4792	

Le profil d'exactitude est représenté graphiquement en abscisse les niveaux des standards de validation (les concentrations 0.05, 0.15 et 0.4 ppm), en ordonnée le biais relatifs. On y reporte le biais relatif moyen pour chaque niveau des standards de validation, leurs limites basses et hautes de l'intervalle de tolérance, ainsi que les limites d'acceptabilité ($\pm 20\%$).

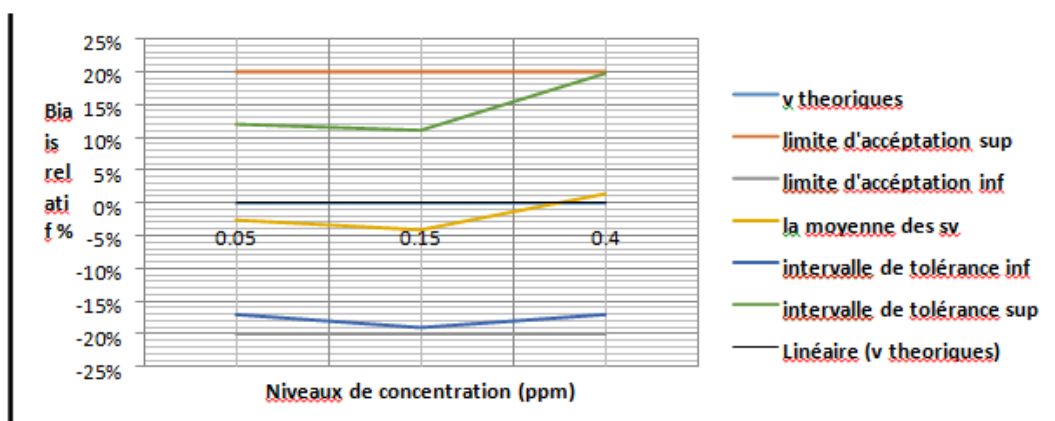


Figure23 : Profil d'exactitude de la méthode de dosage de la cuprurie par SAA flamme.

Les limites inférieures et supérieures de l'intervalle de tolérance sont incluses dans les limites d'acceptabilité ($\pm 20\%$), de ce fait notre méthode est valide pour l'intervalle de dosage choisi.

partie pratique :

Vu que les conditions sanitaires, on a pas pu faire la pratique donc on a analysé deux articles qui discutent notre méthode d'analyse des impuretés élémentaires.

*le premier article concerne l'analyse des impuretés élémentaires présentant dans la forme pharmaceutique liquide à forte dose journalière - analyse comparative par ICP-OES et ICP-MS.

*Le deuxième article concerne la détermination quantitative des impuretés élémentaires présentant dans les préparations pédiatriques de carbonate de calcium selon la méthode ICP-MS.

1. Première partie :

Objet : analyse des impuretés élémentaires dans le chlorhydrate de méthadone.

1.1. Introduction :

-présentation du médicament :

- **Nom DCI** : chlorhydrate de méthadone.
- **Formule** : $C_{21}H_{27}NO$.
- **Catégorie** : Neurologie-psychiatrie.
- **Origine** : ce médicament est un opiacé d'origine synthétique (un opioïde) , il est utilisé chez les toxicomanes comme produit de substitution aux opiacés.
- **Formes galéniques** : sirop en flacons unidoses, gélules, suppositoires (rarement).
- **Voie d'administration** : par voie orale et IV.
- **Excipients** : sorbitol, glycérol, benzoate de sodium, acide citrique, monohydrate , et des colorants dilués dans l'eau purifiée.
- **Toxicomanie: l'Algérie introduit pour la première fois le traitement à la Méthadone :**

L'Algérie a décidé d'introduire le traitement à la Méthadone pour lutter contre la consommation de drogues injectables par les personnes souffrantes d'addictologie.

Le 5 janvier 2021, a été lancé officiellement, à partir de l'hôpital de Frantz Fanon de Blida, le début de la dispensation de ce médicament « au profit des jeunes qui subissent les effets dévastateurs de la toxicomanie ».

- **Indications thérapeutiques :**

Selon les spécialistes, la Méthadone, qui est un opioïde **analgésique**, réduit les risques sanitaires et sociaux liés à l'addiction (overdose, hépatite C, VIH, etc), réduit également les effets du manque (pendant 24 heures) en soulageant les douleurs graves et freine les rechutes. La dispensation de la Méthadone se fait sous surveillance médicale stricte dans des structures spécialisées car elle même peut entraîner une dépendance. Elle fait l'objet dans certains pays européens de « molécules détournées », utilisées comme « un **stupéfiant** » dans le marché noir.

- **Contre-indication :**

- Age inférieur à 15 ans.
- Insuffisance respiratoire grave.
- Iléus paralytique.
- Consommation d'alcool.
- Malabsorption du glucose-galactose.
- Allaitement.

L'auteur présente ici une étude de cas comparative sur la détermination des IE des classes **1** et **2a** dans une solution buvable de chlorhydrate de méthadone à 1 mg/ml, en utilisant la méthode interne validée **ICP-OES**, après la mise en œuvre de la méthode interne validée **ICP-MS** pour la détermination de l'arsenic et du plomb en tant qu'éléments critiques, en utilisant la préparation d'échantillon avec la technique de digestion par micro-ondes .

L'objectif de cette recherche est de démontrer la capacité de détection et l'applicabilité de l'ICP-OES par rapport à l'ICP-MS lors de l'analyse d'IE sélectionnées en faibles concentrations dans des matrices complexes tels que les formes pharmaceutiques liquides à forte dose journalière.

1.2. Matériaux et méthodes :

Réactifs et matériaux :

- l'acide nitrique concentré (70%, v/v, qualité métaux-traces) a été acheté chez Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).
- Eau ultra-pure d'une résistivité de 15 MX utilisée dans les expériences a été préparée en faisant passer l'eau dans un système d'eau ultra-pure Milli-Q Type 1 (EMD Millipore, Billerica, MA, USA).
- La solution d'hydroxyde de sodium (1 mol/l, Titripur) a été achetée chez Merck KGaA (Darmstadt, Allemagne).

- Les solutions standard pour l'étalonnage et les solutions de pointe pour l'évaluation de la récupération ont été préparées en diluant des solutions mères de 1000 mg/ L (Merck, Darmstadt, Allemagne) pour chaque élément.
- Les échantillons de test utilisés pour cette étude étaient constitués de trois lots de production standard du produit pharmaceutique oral méthadone Hydrochloride 1 mg/ml solution orale (Alkaloid AD, Skopje, Macédoine du Nord).

Préparation des échantillons :

Cinq millilitres du produit pharmaceutique ont été soigneusement pesés dans un récipient de digestion par micro-ondes, suivi de l'addition de 3 ml d'acide nitrique et de 5 ml d'eau ultrapure. Chaque récipient a été assemblé et soigneusement fermé hermétiquement. Les échantillons ont été soumis à une digestion par micro-ondes en récipient fermé permettant la décomposition de l'échantillon sous haute température et pression élevée.

un programme de digestion par micro-ondes en deux étapes consistant un temps de rampe de 20 min jusqu'à 210 C, avec un temps de maintien de 15 minutes à 210 C à une puissance de 1800 W. Les échantillons ont été laissés refroidir pendant 20 minutes avant de ventiler et d'ouvrir les récipients de digestion. Les échantillons digérés ont été transférés quantitativement dans des fioles volumétriques de 25 ml, puis dilués au volume final de 25 ml avec de l'eau ultrapure.

La même préparation d'échantillons a été utilisée pour la préparation de solutions en blanc pour l'étude de la limite de détection (LOD) et de la limite de quantification (LOQ).

Préparation des standards :

Les étalons de travail ont été préparés à partir d'une solution mère constituée des éléments d'intérêt par dilution en série avec l'acide nitrique dilué. Ces étalons couvraient un éventail de 10 à 150% de la concentration maximale autorisée pour chaque élément.

Les concentrations des éléments en mg/l sont présentées dans **le tableau 35**.

Element	Level 10%	Level 30%	Level 50%	Level 100%	Level 150%
As	0.0020	0.006	0.010	0.020	0.030
Pb	0.0007	0.002	0.004	0.007	0.011
Hg	0.0040	0.012	0.020	0.040	0.060
Cd	0.0007	0.002	0.004	0.007	0.011
Co	0.0066	0.020	0.033	0.066	0.099
V	0.0132	0.040	0.066	0.132	0.198
Ni	0.0264	0.079	0.132	0.264	0.396

Tableau 35 : Niveaux de concentration (mg/l) des standards d'étalonnage des IE de classe 1 et de classe 2a étudiées.

Méthodes :

- Un système de digestion par micro-ondes EthosUP utilisant des récipients de digestion

SK-15 (Milestone, Shelton, CT) a été utilisé pour la digestion des échantillons.

- Les récipients SK-15 en téflon ont un volume de 100 ml, une pression maximale de 100 bar et une température maximale de 300 C.
- Analyseur de carbone organique total TOC-VCPH/CPN (Shimadzu, Kyoto, Japon) a été utilisé pour mesurer la teneur en carbone résiduel et potentiomètre 888 Titrande (Metrohm, Herisau, Suisse) pour mesurer l'acidité des digestions .
- Un système VDV Agilent 5100 ICP-OES, couplé avec un passeur d'échantillons Agilent SPS-4 et un système ICPMS Agilent 7500cx ont été utilisés pour les expériences.

Les paramètres pour l'ICP-OES et l'ICP-MS sont énumérés dans le **tableau 36**.

Parameter	Setting	Parameter	Setting
Instrument parameters for Agilent 5100 ICP-OES			
RF power	1.40 kW	Pump speed	12 rpm
Plasma Ar flow rate	14 L min ⁻¹	Stabilization time	30 s
Auxiliary Ar flow rate	1.0 L min ⁻¹	Rinse time	40 s
Pneumatic nebulizer Ar flow rate	0.70 L min ⁻¹	Sample uptake	30 s
Rinse time fast pump	On	Sample uptake fast pump	On
Background correction	Fitted	Number of replicates	5
Read time	30 s	Viewing mode	Axial
Wavelengths (nm)			
Pb (II) ionic line	220.353 nm	Co (II) ionic line	238.892 nm
As (I) atomic line	188.980 nm	V (II) ionic line	292.401 nm
Hg (I) atomic line	184.887 nm	Ni (II) ionic line	216.555 nm
Cd (II) ionic line	226.502 nm	-	-
Instrument parameters for Agilent 7500cx ICP-MS			
RF power	1.5 kW	Torch	2.5 mm i.d.
Carrier gas	0.75 L min ⁻¹	Integration time	45 s
Makeup gas	0.18 L min ⁻¹	-	-
Isotope (m/z)			
Pb	208	As	75

Tableau 36 : Paramètres typiques des instruments Agilent 5100 ICP-OES et Agilent 7500cx ICP-MS.

1.3.Résultats et discussion :

Conformément aux dernières exigences établies par la directive ICH Q3D, la solution orale de chlorhydrate de méthadone à 1 mg/ml a été testée pour la présence d'IE de classe 1 et de classe 2a. Étant donné la forte dose journalière (150 ml) du produit pharmaceutique, les concentrations maximales autorisées des éléments d'intérêt sont comprises entre **0,033 ppm** pour le cadmium et le plomb à **1,320 ppm** pour le nickel (**tableau 37**). La sélection des longueurs d'onde des éléments a été faite en fonction de leur intensité et de l'ordre d'ionisation, ainsi que des interférences possibles lors de la prise en charge de l'analyse multi-éléments dans des matrices complexes telles que les produits pharmaceutiques. La spécificité, en tant que partie de la validation des méthodes, implique le processus de sélection des lignes et la confirmation que les interférences pour le processus de mesure ne sont pas significatives. Par conséquent, avant la validation de la méthode, une comparaison des résultats utilisant une courbe d'étalonnage linéaire a été effectuée, fournissant les informations concernant les effets de matrice, la dérive et les facteurs qui influencent la stabilité.

ICHQ3D classification	Element	Oral PDE, µg/day	Maximum permitted concentration (daily intake 150 ml), µg/g	Calculated 30% from max. permitted conc. as control threshold, µg/g
Class I	Cd	5	0.033	0.010
	Pb	5	0.033	0.010
	Hg	30	0.198	0.059
	As	15	0.099	0.030
Class 2a	Co	50	0.330	0.099
	V	100	0.660	0.198
	Ni	200	1.320	0.396

Tableau 37 :Limites de concentration maximales autorisées pour les éléments sélectionnés dans le chlorhydrate de méthadone 1 mg/ml en solution orale.

La préparation de l'échantillon, étape critique, peut entraîner des interférences matricielles et spectrales dans les techniques spectrométriques basées sur l'ICP. L'adéquation et l'efficacité du mélange sélectionné pour la digestion et le programme de digestion appliqué ont été évalués en termes d'acidité résiduelle par titrage potentiométrique et de teneur en carbone résiduel par l'analyseur TOC. L'acidité résiduelle de **1,41 mol/l** et la faible teneur en carbone résiduel (RCC inférieure à **0,1 % mv⁻¹**) ont confirmé la qualité des digestats.

Compte tenu du fait que la détermination des IE devient un test de routine dans l'industrie pharmaceutique ainsi que le coût de l'utilisation du système ICP-MS, l'ICP-OES est considéré comme le premier choix, car il est plus convivial et plus facile à utiliser que l'ICP-MS. Bien que l'ICP-OES soit beaucoup plus compatible avec les tests de routine, il présente des limites lorsqu'il s'agit de déterminer de faibles concentrations d'éléments tels que l'arsenic et le plomb, d'où la nécessité de mettre en œuvre d'une technique plus sensible, l'ICP-MS.

1.4. Validation :

L'auteur a réalisé la validation de la méthode conformément aux spécifications du fabricant ainsi qu'aux exigences données dans l'**USP** chapitre <233> et de la Pharmacopée européenne chapitre 2.4.20 "Détermination des impuretés élémentaires".

Les méthodes quantitatives ont été validées pour la linéarité, la précision du système, l'exactitude, la LOD et la LOQ.

Linéarité :

Les coefficients de corrélation de la courbe de régression linéaire utilisant le pic d'intensité et la concentration des étalons ont été fixés à **(r²)>0,990** pour les éléments d'intérêt évalués par ICP-OES et ICP-MS.

Les résultats des deux techniques présentés dans le **tableau 38** démontrent la linéarité de la réponse de l'instrument en fonction de la concentration sur l'ensemble de la gamme de concentration étudiée.

Element	Correlation coefficient
ICP-OES	
As	0.9991
Pb	0.9968
Cd	0.9998
Hg	0.9999
Co	0.9999
V	1.0000
Ni	0.9999
ICP-MS	
As	0.9970
Pb	0.9982

Tableau 38 : coefficients de corrélation

Précision :

La précision du système a été réalisée en analysant six mesures répétées à partir d'un seul échantillon. Pour tenir compte de la matrice de l'échantillon, les échantillons ont été dopés avec une solution standard à 100% contenant les éléments d'intérêt avant la procédure de digestion. Le degré de reproductibilité des résultats répétés a été évalué. L'analyse répétée de chaque échantillon a donné les valeurs énumérées dans **le tableau 39**.

Les résultats ont montré moins de **10% RSD** pour les éléments, ce qui indique une bonne précision de la méthode, significativement moins que les **20% RSD** requis dans les Pharmacopées.

Element	Average (intensity)	Stdev	RSD%
ICP-OES			
As	24.8	0.73	2.94
Pb	33.5	2.02	6.03
Cd	458	4.00	0.87
Hg	133	1.60	1.19
Co	1113	6.92	0.62
V	4664	33.1	0.71
Ni	35,096	215	0.61
ICP-MS			
As	13,087	325	2.48
Pb	34,215	2158	6.31

Tableau 39 : Résultats de la précision de la méthode.

Exactitude :

L'exactitude de la méthode a été démontrée par la récupération d'une quantité connue des éléments ajoutés au produit pharmaceutique, avant la procédure de digestion. Chaque échantillon a été dopé avec 30, 100, et 150% de la solution mère (contenant les sept éléments) pour l'analyse ICP-OES tandis que les échantillons dopés avec des solutions standard contenant uniquement de l'arsenic et du plomb ont été préparés pour l'analyse ICP-MS. Tous les échantillons ont été préparés en trois exemplaires. **Le tableau 40** résume les résultats de récupération pour les échantillons issus des analyses ICP-OES et ICP-MS.

A partir des résultats obtenus dans **le Tableau 40**, il est évident que les récupérations des pointes pour les éléments étudiés sont satisfaisantes, se situant entre **80 et 115%** pour chaque élément.

Element	30% spike solution		100% spike solution		150% spike solution	
	Recovery %	RSD%	Recovery %	RSD%	Recovery %	RSD%
ICP-OES						
As	101.7	15.6	113.8	5.3	113.8	3.6
Pb	81.0	5.9	103.0	5.0	99.4	3.1
Cd	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
Hg	100.0	0.0	105.0	0.0	103.9	0.9
Co	95.0	0.0	99.0	0.9	97.6	0.6
V	99.2	1.5	102.5	0.4	101.7	1.0
Ni	99.2	0.7	102.2	0.2	101.9	0.8
ICP-MS						
As	102.7	3.2	95.1	0.8	100.1	0.7
Pb	96.0	11.6	96.2	7.0	94.7	0.2

Tableau 40 : Récupération des pointes pour les impuretés élémentaires étudiées de classe 1 et de classe 2a.

Limite de détection et limite de quantification :

La limite de détection et la LOQ dans la spectroscopie d'émission atomique sont effectuées en utilisant le rapport signal/bruit de fond et l'écart-type relatif de la fluctuation du fond du signal.

La LOD peut donc être déterminée comme la concentration de l'analyte qui donne un signal égal à trois fois l'écart-type du fond de la réponse de l'instrument pour le blanc et la LOQ est définie comme étant 10 fois la LOD.

Les résultats de LOD et LOQ obtenus par ICP-OES pour tous les éléments ainsi que les résultats pour l'arsenic et le plomb obtenus par ICP-MS sont présentés dans **le tableau 41**.

Les résultats du **tableau 41** révèlent la capacité de détection de la technique ICP-MS lors de l'analyse de l'arsenic et du plomb à des concentrations aussi faibles, et impliquent la nécessité de mise en œuvre de cette technique pour ces éléments, en raison de leur faible signal et des intensités faibles lorsqu'ils sont analysés par ICP-OES. D'autre part, les données de validation présentées permettent de conclure clairement que la méthode ICP-OES est appropriée à la détermination du Cd, Hg, Co, V, et Ni dans la solution orale de chlorhydrate de méthadone à 1 mg/ml.

Element	LOD (µg/g)	LOQ (µg/g)
ICP-OES		
As	0.012	0.038
Pb	0.009	0.032
Cd	0.0004	0.002
Hg	0.003	0.010
Co	0.002	0.005
V	0.001	0.003
Ni	0.001	0.005
ICP-MS		
As	0.005	0.017
Pb	0.001	0.004

Tableau 41 : LOD et LOQ des IE étudiés des classes 1 et 2a

Analyse de la solution orale de chlorhydrate de méthadone :

Les résultats des analyses par ICP-OES et ICP-MS de trois lots de production standard de la solution orale de chlorhydrate de méthadone 1 mg/ml avec les deux méthodes internes

validées appliquées sont présentés dans **le tableau 42**. Seuls l'arsenic et le plomb ont été détectés dans les échantillons avec des quantités inférieures à **30 %** du niveau de spécification, les autres éléments étaient inférieurs à la limite de détection. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la concentration maximale autorisée.

Element	Oral PDE (µg/day)	Maximum permitted concentration (µg/g) (daily intake 150 g)	Batch 1 (ICP-OES)	Batch 1 (ICP-MS)	Batch 2 (ICP-OES)	Batch 2 (ICP-MS)	Batch 3 (ICP-OES)	Batch 3 (ICP-MS)
Pb	5	0.033	10.61	15.15	22.59	25.25	18.18	9.89
As	15	0.099	18.01	16.70	14.73	16.83	18.85	16.24

Tableau 42 : Détermination de l'arsenic et du plomb par les méthodes ICP-OES et ICP-MS

D'après les résultats présentés dans **le tableau 42**, il est évident que les résultats obtenus pour l'arsenic analysé avec l'ICP-OES et l'ICP-MS sont comparables, malgré les résultats insatisfaisants de la LOD et de la LOQ par ICP-OES réalisés dans la procédure de validation de la méthode. Bien que la LOQ pour l'arsenic par ICP-OES est de **38%**, les résultats obtenus sont précis lorsqu'ils sont comparés à ceux obtenus par ICP-MS sur les mêmes échantillons avec une différence d'environ **2%** par lot. Cependant, en raison de l'incapacité à combler les exigences pour les paramètres de validation LOD et LOQ par ICP-OES spécifiés dans les lignes directrices, la mise en œuvre de l'ICP-MS est fortement recommandée pour la détermination de l'arsenic. Dans le cas du plomb, il est évident que les résultats obtenus par ICP-OES ne sont pas concluants et non comparables aux résultats obtenus par ICP-MS. La LOQ pour le plomb par ICP-OES est d'environ **97%**, ce qui est inacceptable et ces résultats doivent être confirmés par une analyse ICP-MS.

Etant donné que les paramètres de validation LOD et LOQ ne sont pas atteints par l'ICP-OES pour la détermination de As et Pb, l'ICP-MS est une méthode de choix pour l'analyse de ces éléments dans les produits pharmaceutiques dont l'apport quotidien est élevé.

1.5.Conclusions :

La détermination des IE dans les produits pharmaceutiques est aujourd'hui facilement réalisable en utilisant des techniques instrumentales modernes basées sur l'ICP telles que l'ICP-OES et l'ICP-MS. Les avantages de ces méthodes par rapport aux tests colorés limites conventionnels des pharmacopées permettent de contrôler et d'alerter sur la présence potentielle de ces impuretés dans les produits pharmaceutiques, ce qui permet d'obtenir des médicaments sans IE. La technique ICP-OES est considérée comme le premier choix pour les tests de routine, en raison de sa convivialité et de sa viabilité, ainsi que son faible coût.

La méthode ICP-OES présentée couvrant la détermination de Cd, Hg, Co, V et Ni a été validée avec succès en termes de linéarité, de précision du système, d'exactitude, de LOD et de LOQ, conformément aux exigences des pharmacopées. Comme on peut le voir dans les données de validation présentées dans les **tableaux 38 à 40**, cette méthode pour la détermination de l'As et du Pb a été validée avec succès pour la linéarité, la précision, l'exactitude, mais pas pour la limite de détection et la limite de quantification.

Le principal inconvénient de la mise en œuvre de la méthode ICP-OES en tant que test de

routine dans le cas de médicaments à forte dose journalière est la LOD pour As et Pb, avec des LOQ d'environ **38 %** et **96 %** du niveau de spécification, respectivement (**Tableau 41**). Par conséquent, la méthode interne ICP-MS a été soigneusement validée pour la détermination de l'As et du Pb, en tant que technique plus sensible avec une LOD beaucoup plus faible. Elle permet de surmonter les limites de la méthode ICP-OES. Cette méthode convient à l'analyse des médicaments à forte dose journalière. De plus, il est prouvé qu'elle est exacte, précise et sensible, mais aussi moins conviviale et beaucoup plus coûteuse que la méthode ICP-OES.

On peut conclure que la présente technique ICP-OES est une technique appropriée pour la détermination de Hg, Co, Cd, V, et Ni dans des médicaments à forte consommation quotidienne, à l'exception de l'As et du Pb. La mise en œuvre de l'ICP-MS au lieu de l'ICP-OES doit être considérée au cas par cas en fonction de l'apport quotidien du médicament.

2. Deuxième partie :

Objet : analyse des impuretés élémentaires dans les préparations pédiatriques de carbonate de calcium.

2.1. Introduction:

-Présentation du médicament :

- **Nom DCI :** Carbonate de calcium
- **Formule :** CaCO_3 .
- **Formes galéniques :** comprimé à sucer ou à croquer, comprimé effervescent, poudre pour solution buvable en sachet-dose.
- **Origine :**

Le carbonate de calcium fait partie des minéraux les plus abondants sur Terre et représente environ 4 % de la croûte terrestre. Il est présent naturellement dans trois principaux types de roches : la craie, le calcaire et le marbre.

Le carbonate de calcium, qui est extrait de la terre en combinaison avec d'autres impuretés minérales, est largement utilisé dans les préparations de suppléments pédiatriques. Il est donc très urgent d'évaluer la sécurité de l'exposition chronique à des impuretés élémentaires qui peuvent être présents à l'état de traces.

- **Indications :**

-Carence en calcium ; Chez l'enfant en période de croissance, Chez la femme enceinte, Chez la femme allaitante.

-Ostéoporose ; Traitement d'appoint, Chez le sujet Age, Chez la femme ménopausée, En cas de corticothérapie prolongée. En cas d'immobilisation prolongée.

-Rachitisme carentiel ; chez l'adulte.

-Ostéomalacie ; chez l'adulte.

- **Contre-indication** ; Calcinose, Hypercalcémie, Lithiase calcique, Nephrocalcinose, Hyper calciurie, Lithiase rénale....

-Chez les enfants, et les nourrissons, le calcium contenu dans les aliments ne répond souvent pas aux besoins de l'organisme à ce stade de croissance et de développement rapide ; en effet, un apport insuffisant en calcium affectera la croissance et le développement, les préparations de suppléments de calcium sont suggérées pour répondre à la demande de l'organisme en raison de sa teneur élevée en calcium et de son faible prix, le carbonate de calcium est actuellement reconnu comme la principale source de calcium présentant le meilleur rapport performance/prix en Chine et dans d'autres pays. . Il est donc la matière première préférée pour les préparations de suppléments de calcium. Le carbonate de calcium est extrait de la terre en combinaison avec d'autres minéraux, et il peut être divisé en carbonate de calcium léger et en carbonate de calcium moulu selon la méthode de production.

Les sources naturelles de carbonate de calcium peuvent contenir diverses impuretés élémentaires telles que le plomb, l'arsenic et le mercure, introduites à partir des matières premières ou lors de la production des préparations.

Les enfants peuvent être particulièrement sensibles aux effets toxiques de ces métaux car ils ont tendance à absorber une fraction relativement plus élevée d'une dose orale que les adultes. En particulier, les patients pédiatriques présentent une sensibilité élevée au plomb.

les objectifs de cette étude étaient de comparer la teneur en impuretés élémentaires et les caractéristiques de variabilité du carbonate de calcium léger et broyé afin de fournir des conseils pour la sélection appropriée des matières premières de carbonate de calcium et d'évaluer le risque d'exposition chronique aux éléments qui peuvent être présents à l'état de traces dans les préparations de suppléments pour enfants.

Donc pour la faible sensibilité de quelques techniques d'analyse, l'auteur a développé une méthode ICP-MS à haut débit pour la détermination quantitative de 62 impuretés élémentaires dans des échantillons de carbonate de calcium à haute maturation et validée selon la norme USP 233. La limite de chaque élément a été déterminée en se référant aux niveaux d'apport quotidien dans l'environnement, valeurs PDE d'éléments apparentés dans le Q3D de l'ICH et à la fourchette de contenu dans les produits. Cette méthode a été utilisée pour évaluer les préparations de carbonate de calcium qui sont clairement utilisées pour les enfants.

2.2. MATÉRIAUX ET MÉTHODES :

Échantillon :

Deux types d'ingrédients pharmaceutiques actifs de carbonate de calcium ont été fournis par sept fabricants. Les préparations de carbonate de calcium, qui indiquent clairement être

utilisées pour les enfants ,notamment le carbonate de calcium (effervescent) en granules, le carbonate de calcium D3 (comprimés/granules), le carbonate de calcium, gluconate de calcium et de zinc (liquide oral), étaient disponibles sur le marché chinois. Toutes les préparations de carbonate de calcium ont déjà été testées et elles répondent toutes aux exigences des normes de qualité du ChP 2020.

Préparation des échantillons :

Échantillons de carbonate de calcium :

Deux méthodes de traitement des échantillons ont été adoptées. Dans la première méthode, les échantillons ont été préparés en dissolvant environ 100 mg de préparations de carbonate de calcium et de carbonate de calcium api dans une fiole jaugée de 25 ml avec 1,25 ml d'acide nitrique concentré et en agitant plusieurs fois pour accélérer la dissolution, puis en reconstituant avec de l'eau ultrapure (système de purification d'eau Milli-Q).après que la réaction soit réalisée environ 1 h à température ambiante (environ 25° C).

Dans la deuxième méthode, les échantillons ont été préparés en dissolvant environ 100 mg de préparations de carbonate de calcium et de carbonate de calcium API dans une fiole jaugée de 25 ml avec 1 ml d'acide nitrique concentré et 0,25 ml d'acide chlorhydrique, en agitant plusieurs fois pour accélérer la dissolution. Et ensuite reconstituer avec de l'eau ultrapure contenant 0,1% d'acide fluorhydrique (HF) après que la réaction soit effectuée environ 1 h à température ambiante (environ 25°C).

Les préparations liquides ont été testées sous forme de flacon entier (5 ml).

Standard interne :

Un mélange de 500 ng/ml d'iridium et de ruthénium a été utilisé comme standard interne, qui a été introduit en ligne dans la chambre de pulvérisation à l'aide d'une pompe péristaltique.

Étalons de calibrage :

Les impuretés élémentaires ont été divisées en deux groupes. Le premier groupe comprenait 42 éléments (Li, B, Na, Sc, Ti, V, Fe, Co, Cu, Zn, Ge, As, Se, Br, Rb, Zr, Mo, Ag, Cd, In, Te, Ba, Pr, Ce, Nd, Sm, Tb, Dy, Er, Tm, Yb, Lu, Pb, Bi, Th, U, Mg, Al, Mn, Sr, La et Os) avec d'acide nitrique à 5% comme solvant pour préparer une solution multi-éléments (S1). Le deuxième groupe comprenait 20 éléments (Be, Cr, Ni, Ga, Y, Nb, Rh, Pd, Sn, Sb, Cs, Gd, Ho, Hf, Ta, W, Pt, Au, Hg, Tl) avec un mélange acide (HNO₃:HCl:H₂O : HF= 4:1:95:0,1) utilisé comme solvant pour préparer une solution mère standard multi-élémentaire (S2).

Les solutions mères S1 et S2 ont été préparées sous la forme d'une série de solutions standard de 0, 0.5, 1.0, 1.5, et 10 J, respectivement,

(J c'est la limite de chaque impureté élémentaire dans la solution d'analyse finale.)

Échantillons chargés :

Des échantillons dopés ont été préparés à 50 % (0,5J), 100 % (1,0J), et 150 % (1,5 J) de la limite cible en dopant 100 mg des préparations de carbonate de calcium avec 250, 500 et 750 µL de la solution de dopage, et du diluant rempli jusqu'à un volume total de 25 ml. Six préparations au niveau de dopage de 100 % ont été préparées et trois préparations au niveau de dopage de 50 et 150% ont été respectivement préparées.

Instrumentation :

Toutes les déterminations d'éléments ont été effectuées sur un système Agilent 7900 ICP-MS équipé de cônes d'échantillonnage et d'écumage standard en nickel d'un nébuliseur concentrique en verre, d'une chambre de pulvérisation en quartz et d'une torche en quartz avec un diamètre interne de 2,5 mm, L'instrument comporte également une cellule de collision/réaction Comprenant une ligne de gaz de cellule standard en mode hélium (He), qui Permet d'éliminer efficacement les interférences poly atomiques les plus courantes .Le gaz He utilisé dans les cellules de collision est de haute Pureté (99,999 %). Le gaz Argon était utilisé pour le plasma et la dilution a la pureté recommandée (99,999 %).

Les paramètres expérimentaux de l'ICP-MS sont énumérés dans le **tableau 43** ;

Parameter	Setting	Parameter	Setting
Plasma power	1550 W	Sample lifting rate	0.1 rps
Sampling depth	10.0 mm	Spray chamber temperature	2°C
Nebuliser	MicroMist nebulizer	Acquisition mode	Mass spectrum
He gas flow	4.3 ml/min	Peak type	3 points
Carrier gas flow	1.01 L/min	Number of replicates	3

Tableau 43 : les paramètres expérimentaux de ICP-MS

2.3.RÉSULTATS ET DISCUSSION :

Développement et validation de la méthode ICP-MS

Méthode :

Pour réaliser une évaluation complète des impuretés élémentaires potentielles dans le carbonate de calcium, 62 types d'impuretés élémentaires sont d'impuretés élémentaires cibles dans l'étude, y compris la plupart des éléments autres que synthétiques, radioactifs, les gaz inertes et les principaux composants de l'air.

La majorité de la teneur en impuretés élémentaires se situe au niveau ppb-ppt. Cependant, l'ICP-OES n'est pas assez sensible.

L'ajout de l'échantillon peut entraîner un effet de matrice plus important et y a trop de types d'impuretés et de graves interférences de ligne. Par conséquent, la méthode ICP-MS avec une plus grande sensibilité est choisie dans cette étude.

Cette étude a choisi la digestion à température ambiante. Elle a comparé les effets de l'acide nitrique et d'un mélange d'acide nitrique et d'acide chlorhydrique (80:20), de la dissolution simple dans 5% HNO₃ et du HNO₃/HCl, 2% HNO₃ et HNO₃/HCl qui ont été sélectionnés comme appropriés pour la détection de différentes impuretés élémentaires. Les résultats indiquent que la dissolution simple nécessite plus de temps pour la réaction. Cependant, l'échantillon contenait une grande quantité de Ca.

Pour réduire l'influence de la matrice sur les résultats, la méthode de la courbe standard de correction de l'étalon interne a été choisie.

D'après les résultats de la pré-expérience, Ir et Ru n'ont pas été détectés dans les échantillons. Par conséquent, ces deux éléments ont été sélectionnés Comme Standard interne dans cette étude.

A l'exception des éléments apparentés dans la Q3D de l'ICH, les valeurs de PDE des autres éléments ont également été déterminées en se référant aux niveaux quotidiens dans l'environnement et à la gamme de contenu dans les produits.

Selon l'USP<233>, la validation de la méthode était basée sur le J, qui a été calculé en fonction de la PDE.

La méthode ICP-MS a été validée avec succès en termes de linéarité, de limite de quantification, d'exactitude, de précision, de fidélité intermédiaire, de la spécificité et de l'étendue, afin de satisfaire aux exigences de la validation des procédures alternatives énoncées dans le chapitre 233 de l'USP.

Les coefficients de corrélation pour chaque élément étaient tous $\geq 0,99$. Le site

limite de quantification et de gamme pour tous les éléments ont satisfait à l'exigence de précision. Les récupérations de pointes des éléments à partir des préparations de carbonate de calcium sont énumérés dans le **tableau 44** ;

Element	Isotope	Mode	LOD	LOQ	Recovery (% , n = 3)			Repeatability (RSD%, n = 6)	Intermediate precision (RSD%, n = 12)	J (ppb)
					0.5J	1.0J	1.5J			
Cd	111	He	0.0009	0.003	86.8	101.2	98.8	9.7	9.6	2
Pb	208	He	0.006	0.02	78.4	86.4	88.4	11.0	10.1	2
As	75	He	0.005	0.02	86.4	99.9	99.0	9.9	9.5	4
Hg	201	He	0.02	0.05	100.5	102.0	110.5	3.1	2.9	8
Co.	59	He	0.002	0.008	89.3	100.0	98.3	8.0	8.4	4
V	51	He	0.005	0.02	89.3	99.6	96.1	8.7	8.7	20
Ni	60	He	0.006	0.02	90.3	100.0	103.0	4.3	3.7	4
Ti	205	He	0.004	0.01	87.8	89.8	96.6	7.2	5.4	2
Au	197	He	0.2	0.5	104.4	103.0	106.6	4.3	4.0	20
Pd	105	He	0.003	0.01	93.6	96.1	102.1	7.1	5.1	5
Os	189	He	0.04	0.1	104.4	113.3	135.3	7.8	8.3	0.5
Rh	103	He	0.001	0.005	96.1	97.2	104.2	6.9	5.1	0.4
Se	82	He	0.4	1.3	96.3	107.3	112.4	8.9	8.2	40
Ag	107	He	0.002	0.006	87.4	96.8	95.7	8.5	8.1	2
Pt	195	He	0.002	0.005	93.1	94.0	103.5	7.0	5.7	0.8
Li	7	No	0.03	0.1	99.2	97.0	98.7	1.4	17.9	5.0
gas										
Sb	121	He	0.002	0.006	93.7	103.9	115.6	7.4	6.1	5
Ba	137	He	0.01	0.03	70.5	88.7	90.2	13.3	12.6	10
Mo	95	He	0.004	0.01	93.1	103.1	101.3	8.0	7.9	8
Cu	63	He	0.03	0.08	89.6	100.2	97.4	8.4	8.4	100
Sn	118	He	0.01	0.03	105.2	106.0	115.4	8.1	5.8	0.4
Cr	52	He	0.01	0.04	99.5	108.3	114.8	4.4	3.5	60
B	11	No	0.9	3	88.1	86.1	86.3	1.5	16.4	200
gas										
Na	23	He	6	21	72.1	86.8	92.6	13.5	13.2	200
Sc	45	He	0.02	0.1	85.1	94.2	92.1	8.4	8.3	50
Ti	47	He	0.06	0.2	77.6	91.8	90.6	10.0	10.2	50
Fe	56	He	0.6	2	75.8	90.1	88.1	10.1	10.5	800
Zn	66	He	1	4	86.8	95.6	93.1	8.4	8.0	200
Ge	72	He	0.008	0.03	81.1	97.3	95.7	8.6	9.0	4
Br	79	He	1.5	4.9	67.7	81.4	81.7	10.0	9.0	120
Rb	85	He	0.002	0.005	75.4	90.6	87.2	10.6	8.8	0.4
Zr	90	He	0.005	0.02	89.0	98.7	98.1	9.1	8.6	20
In	115	He	0.004	0.01	85.5	95.7	94.9	8.6	8.6	50
Te	125	He	0.01	0.04	83.7	94.7	97.4	10.5	10.6	4
Pr	141	He	0.0003	0.0008	78.2	91.9	93.2	11.0	11.5	0.4
Ce	142	He	0.002	0.008	91.9	103.5	100.7	8.3	8.8	100
Nd	146	He	0.001	0.005	90.2	100.3	97.2	8.6	8.4	20
Sm	147	He	0.0005	0.002	92.6	101.1	100.1	8.5	8.9	8
Tb	159	He	0.0004	0.001	84.8	91.5	91.5	7.8	7.2	2
Dy	163	He	0.0002	0.0008	84.6	92.0	91.8	7.9	7.2	5
Er	166	He	0.0003	0.001	87.7	94.4	93.6	7.8	7.0	8
Tm	169	He	0.00004	0.0001	87.1	94.6	93.6	7.7	6.9	2
Yb	172	He	0.0004	0.001	87.9	95.0	93.8	7.6	6.9	20
Lu	175	He	0.0004	0.001	83.5	90.7	91.1	7.6	6.8	16
Bi	209	He	0.02	0.06	96.8	99.4	91.2	7.0	7.6	0.4
Th	232	He	0.0004	0.001	80.0	91.8	92.9	10.8	10.6	0.24
U	238	He	0.0002	0.0006	68.2	82.0	85.9	20.3	19.9	0.2
Be	9	No	0.001	0.004	93.8	102.7	89.6	7.7	14.2	2
gas										
Ga	71	He	0.002	0.006	100.7	106.6	114.1	6.9	5.5	4
Y	89	He	0.001	0.004	103.8	107.7	116.9	7.3	5.3	20
Nb	93	He	0.0005	0.002	119.2	119.2	123.5	5.8	6.6	0.4
Cs	133	He	0.0005	0.002	99.9	104.0	113.4	6.7	4.8	0.8
Gd	160	He	0.0006	0.002	103.0	108.2	116.4	3.4	2.8	8
Ho	165	He	0.00008	0.0003	101.4	103.6	112.8	6.4	4.5	0.8
Hf	178	He	0.0009	0.003	110.0	106.9	112.6	6.8	5.1	0.4
Ta	181	He	0.0006	0.002	111.4	107.4	114.2	6.9	5.3	0.2
W	182	He	0.001	0.004	105.3	103.9	112.9	6.8	4.8	2
Mg	24	He	0.6	2	87.7	112.6	98.8	8.4	5.9	1,000
Al	27	He	2	7	90.5	109.0	98.2	6.7	4.7	200
Mn	55	He	0.03	0.1	95.7	108.9	100.6	6.4	4.7	30
Sr	88	He	0.03	0.1	92.3	111.3	100.9	7.1	5.2	100
La	139	He	0.8	3	87.7	102.5	94.2	8.6	7.2	50

Tableau 44 :Précision (récupération moyenne du pic%), répétabilité et précision intermédiaire (comme RSD%).

La valeur J a été déterminée en fonction de la valeur d'exposition journalière admissible PDA du médicament et du multiple de dilution pendant la préparation de l'échantillon. Préparation de l'échantillon: 100 mg à 25 ml, dilution multiple 4 000 (n), $J = PDE/n$.

A l'exception du taux de récupération de 68% pour Br et U à 0,5 J, qui était légèrement inférieur à l'exigence limite de 70 %, tous les autres éléments ont satisfait à l'exigence de précision de 70 - 150 %. Un deuxième analyste a préparé et analysé six préparations des échantillons d'environ 100 % de la limite cible (J) avec des solutions de dopage fraîchement préparées un jour différent. Les échantillons ont été quantifiés par rapport à normes d'étalonnage fraîches. La robustesse a été établie comme la variation de la précision de la moyenne d'un opérateur/jour à l'autre.

Les résultats déterminés pour la robustesse sont résumés dans le **tableau 44**. Le RSD% pour toutes les préparations (n= 12) pour chaque élément cible était $\leq 25\%$. Tous les critères d'acceptation décrits dans les chapitres 233/232 de l'USP pour la robustesse ont été respectés.

Évaluation des risques et contrôle des impuretés dans le carbonate de calcium API :

Échantillons :

Le carbonate de calcium est présent partout dans la nature, notamment sous la forme de calcaire, de marbre, de calcite et de corail. La majorité des produits industriels contenant du carbonate de calcium sont des poudres qui sont produites par le traitement du minerai de carbonate de calcium par une méthode mécanique (c'est-à-dire le carbonate de calcium broyé) ou une méthode chimique (le carbonate de calcium léger).

Dans cette étude, l'auteur a évalué le carbonate de calcium léger de quatre fabricants différents (dont sept lots du fabricant I et un lot de chacun des autres fabricants) et évalué le carbonate de calcium broyé provenant de trois fabricants différents (dont quatre lots du fabricant V et un lot de chacun des autres fabricants).

En comparant les résultats des tests sur le carbonate de calcium léger du

Fabricant I et du carbonate de calcium broyé du fabricant V, 15 impuretés élémentaires n'ont pas été détectées dans le carbonate de calcium léger, 23 impuretés n'ont pas été détectées dans le carbonate de calcium broyer, et 13 impuretés élémentaires n'ont pas été détectées dans les deux type carbonate de calcium.

Prenant la teneur en impuretés élémentaires dans trois fois la valeur moyenne comme norme d'absence de différence, l'auteur a identifié 15 impuretés élémentaires sans différence entre les carbonates de calcium léger et le carbonate de calcium broyé, 22 impuretés élémentaires avec une teneur plus élevée dans le carbonate de calcium léger que dans le carbonate de calcium broyé, et seulement 9 impuretés élémentaires avec une teneur plus élevée dans le carbonate de calcium broyé que dans le carbonate de calcium léger. Plus précisément, comme le montre la **figure 24**, les teneurs en Cd, Pb, As, V, Ni, Cr et Cu dans le carbonate de calcium léger étaient plus élevées que celles du carbonate de calcium broyé et les valeurs ont également montré un plus grand écart-type dans le carbonate de calcium léger (**Figure 24A**).

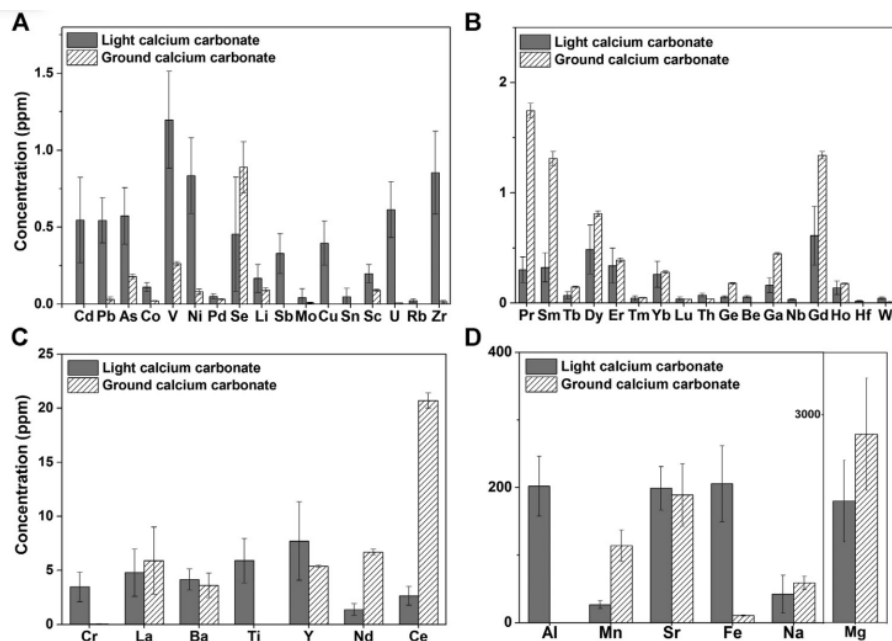


Figure 24 : Histogramme des impuretés élémentaires du carbonate de calcium léger (fabricant I, sept lots) et du carbonate de calcium broyé (fabricant V, quatre lots)(Les impuretés élémentaires non détectées dans le calcium léger et le calcium lourd ne sont pas répertoriées).

En revanche, les teneurs en Ge, Ce, Nd, Sm, Ga et autres éléments étaient plus élevées dans le carbonate de calcium broyé que dans le carbonate de calcium léger, mais l'écart-type était plus petit que celui du carbonate de calcium léger (**Figures 24.B, C**).

Parmi eux, la teneur dans le carbonate de calcium broyé était environ 10 fois plus élevée que celle du carbonate de calcium léger. En outre, la teneur en Mn du carbonate de calcium broyé était de 114 ± 23 ppm, alors que celle du carbonate de calcium léger était de 28 ± 6 ppm, indiquant à la fois une moyenne et un écart-type plus élevés dans le carbonate de calcium broyé (**Figure 24.D**).

Les différences entre les deux types de carbonate de calcium se sont manifestées dans la quantité, la teneur et la différence de lot de leurs impuretés élémentaires constitutives. Cette comparaison globale des résultats de détection du carbonate de calcium léger du fabricant I et du carbonate de calcium broyé du fabricant V a montré que le carbonate de calcium broyé est légèrement supérieur au carbonate de calcium léger en termes de teneur, de quantité et de degré de variation des impuretés élémentaires.

Alors que la teneur et la variation des différents impuretés élémentaires n'avait pas de corrélation absolue avec le type de carbonate, parmi les 24 éléments spécifiés dans la Q3D de l'ICH, 12 impuretés dans le carbonate de calcium léger du fabricant I ont été détectées à des niveaux plus élevés que celles du carbonate de calcium broyé du fabricant V. En particulier, les niveaux de l'élément primaire Cd ($0,6 \pm 0,3$ ppm) et Pb ($0,5 \pm 0,1$ ppm) étaient supérieures aux exigences de la limite (0,5 ppm, sur la base d'une dose quotidienne de 10 g), bien que les niveaux d'autres éléments aient été inférieurs aux seuils de contrôle, avec quelques variations notables. Pour les éléments non spécifiés dans la Q3D, nous nous sommes référés aux données sur l'exposition environnementale et nous avons fixé une limite que l'exposition environnementale. Parmi ces éléments, La (~5 ppm), Sr (~200 ppm), Yb (~0,3 ppm), Dy (~0,7 ppm), et Er (~0,4ppm) ont été détectés dans les deux types de carbonate de calcium

avec une teneur comparable. Les teneurs en Pr, Ce et Nd dans le carbonate de calcium broyé étaient supérieures à la valeur limite proposée, et les teneurs en PR, Ce et Nd différaient considérablement entre le carbonate de calcium léger et le carbonate de calcium broyé. Pour ces impuretés élémentaires sans exigences de limites clairement définies, des études toxicologiques approfondies devraient être menées pour établir des limites raisonnables. Actuellement, la teneur en Fe des matières premières de carbonate de calcium est principalement contrôlée par comparaison avec une solution standard de fer par le biais d'une réaction colorée. Le ChP spécifie que la teneur en Fe ne doit pas dépasser 400 ppm, tandis que le PE fixe une limite de 200 ppm. En utilisant la méthode ICP-MS, la teneur en Fe dans les produits de carbonate de calcium légers du fabricant IV était de 424 ppm, ce qui est proche ou supérieur à l'exigence de la limite, et il était difficile de le distinguer avec colorimétrie visuelle. Il est important de noter que la teneur de chaque impureté élémentaire détectée dans les produits de carbonate de calcium léger de différents fabricants variaient considérablement (**Figure 25**). La teneur en Cd dans les produits du fabricant I était de 0,6 ppm, tandis que celle des produits du fabricant II n'était que de 0,03 ppm. D'autres impuretés élémentaires telles que Pb (0-0,6 ppm), As (0,2-1,1 ppm), Fe (10-424 ppm), et La (0-5 ppm) ont également montré de grandes variations de contenu entre les produits des différents fabricants.

Parmi les produits de carbonate de calcium broyé provenant de trois fabricants, la teneur en Ba (2 629 ppm) du carbonate de calcium broyé du fabricant VI ne répondait pas à la norme de la pharmacopée (ChP et USP), ce qui est cohérent avec les résultats de détection de cette méthode. L'élément dans le carbonate de calcium broyé du fabricant VIII était 26 ppm plus élevé que celui des autres fabricants (environ 6 ppm), alors que le contenu de chaque impureté élémentaire dans les produits de carbonate de calcium broyé des autres fabricants était constante.

Cette différence observée dans les impuretés élémentaires entre le carbonate de calcium léger et le carbonate de calcium broyé peut être due au fait que le carbonate de calcium léger est généralement produit par calcination de matières naturelle provenant de larges sources, tandis que le carbonate de calcium broyé est généralement produit en broyant de la calcite naturelle de haute blancheur et pureté.

Les sources de calcaire comme matière première des préparations de carbonate de calcium peuvent varier d'un fabricant à l'autre, ce qui entraîne de grandes variations dans les Impuretés élémentaires dans le carbonate de calcium léger produit par différents fabricants, tandis que les impuretés élémentaires dans le carbonate de calcium Broyé préparé à partir de calcite sont relativement stables.

Par conséquent, du point de vue du contrôle de la qualité, le carbonate de calcium broyé est recommandé comme matière première des Préparations de suppléments de calcium. De plus, compte tenu de l'incertitude concernant les sources de matières premières, des Contrôles de la qualité doivent être établies pour le carbonate de calcium léger et le carbonate de calcium broyé, et seulement les matières premières qui répondent aux exigences de la production de préparations doivent être Sélectionnées de manière à garantir une qualité élevée.

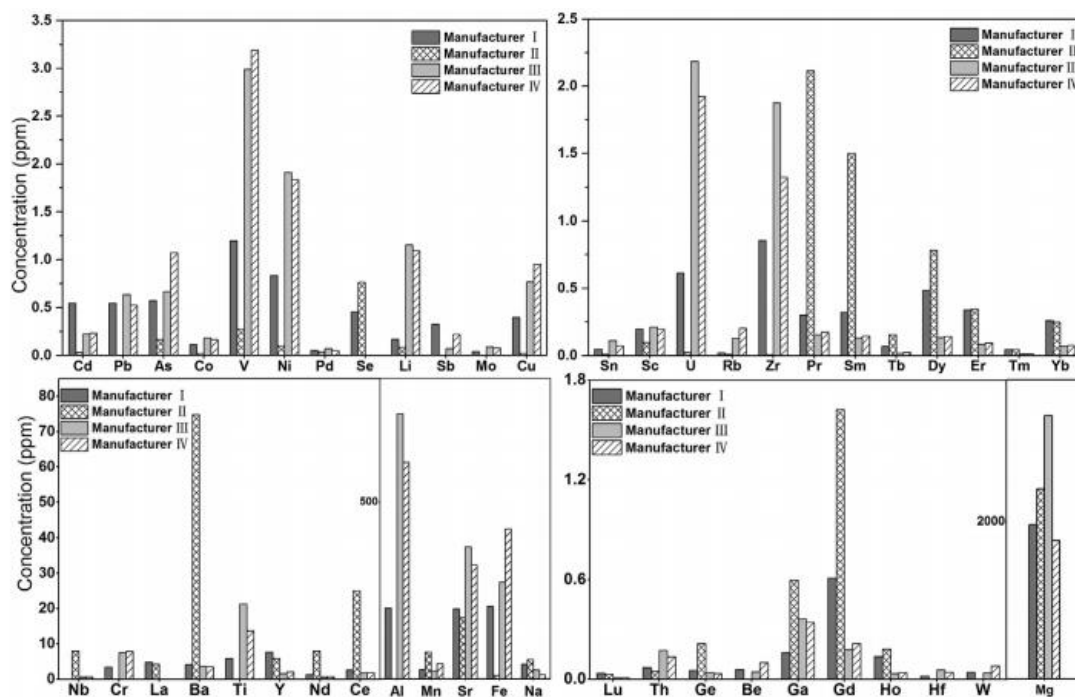


Figure 25 : Histogramme de l'impureté élémentaire du carbonate de calcium léger (fabricant I ~ fabricant IV) (Les impuretés élémentaires non détectées dans le calcium léger ne sont pas répertoriées).

Évaluation des risques et contrôle des impuretés dans le carbonate de calcium :

Préparations :

Les impuretés élémentaires préoccupantes sur le plan toxicologique détectées dans de multiples lots de préparations de carbonate de calcium provenant de neuf fabricants étaient tous conformes aux exigences de la limite Q3D. Cependant, les limites de certaines impuretés élémentaires diffèrent de celles des indicateurs minéraux dans les normes relatives aux préparations pour nourrissons.

Ces préparations peuvent présenter certains risques lorsqu'elles sont données à de jeunes enfants. Par exemple, la teneur en Se dans des produits des fabricants P1 ($0,5 \pm 0,06$ ppm) et P9 ($0,4 \pm 0,03$ ppm) dépassait la limite de 0,06 ppm spécifiée par les normes relatives aux préparations pour nourrissons, mais était bien inférieure à la limite de 15 ppm spécifiée par la norme Q3D.

Dans tous les produits testés, la teneur du métal lourd Cu ne dépassait pas la limite de 0,9 ppm spécifiée par les normes relatives aux préparations pour nourrissons ou l'exigence de limite beaucoup plus élevée de la Q3D (300 ppm). Compte tenu de ces éléments minéraux dont les limites spécifiées sont différentes, il est suggéré d'essayer de satisfaire les besoins nutritionnels uniquement afin d'éviter d'éventuels risques pour la sécurité causés par un dosage excessif, en particulier pour les jeunes enfants et les nourrissons.

La préparation du fabricant P4 était un supplément de calcium spécifiquement conçue pour les enfants, et la teneur en Pb était légèrement supérieure au seuil de contrôle, alors que la teneur en Pb dans les préparations des autres fabricants était de 30% inférieure à la limite. La teneur en Pb dans plusieurs lots de matières premières était supérieure à 0,5 ppm avec un maximum de 0,2 ppm. Ces résultats ont démontré que la principale source de Pb dans les préparations était les matières premières, alors que les matières auxiliaires n'avaient qu'une contribution faible ou nulle aux impuretés élémentaires. La teneur en Pb dans les préparations provenant de différents fabricants allait de 0,01 à 0,2 ppm, ce qui indique une variation élevée entre les

différents fabricants. Des niveaux de Pb dans le sang supérieurs à 10 µg/dl sont connus pour affecter différentes zones du cerveau qui influencent le comportement et causent de nombreux autres problèmes de santé chez enfants . Par conséquent, une méthode exclusive doit être adoptée pour s'assurer que la teneur en Pb est conforme aux exigences de la limite.

Hg, Os et Pt n'ont été détectés dans aucune des préparations.

Bien que les teneurs en autres éléments varient selon les différents produits, elles étaient toutes bien inférieures aux limites de Q3D.

Cependant, il est intéressant de noter que la teneur en Na était de 26 000 ppm dans les produits du fabricant P3 et était d'environ 2 000 ppm dans les produits du fabricant P4.

La teneur en Na dans les produits des autres fabricants se situait entre 25 ± 3 ppm et 258 ± 16 ppm, mais elle était inférieure à 100 ppm dans de nombreux lots de matières premières, et ne différait pas entre le carbonate de calcium léger et le carbonate de calcium broyé. Cependant, les pharmacopées USP et la pharmacopée ChP ne sont pas des éléments d'inspection pertinents pour Na dans les normes relatives aux préparations à base de carbonate de calcium, mais seulement des points de contrôle des métaux alcalins. Selon les normes de la pharmacopée, le calcium est précipité à partir des matières premières de carbonate de calcium par une solution d'essai d'oxalate d'ammonium, l'acide sulfurique est ajouté à la solution filtrée pour la réaction, et enfin les niveaux de Mg et de métaux alcalins (Li, Na, K, Rb, et Cs) dans les matières premières de carbonate de calcium sont contrôlés sur la base d'un résidu d'allumage ne dépassant pas 1,0 %. nous savons que la teneur en Na permettant de répondre aux besoins nutritionnels normaux spécifiés dans les normes relatives aux aliments pour nourrissons âgés de 0 à 12 mois est de 120-410 ppm (Commission nationale de la santé de la République populaire de Chine, 2010 ; pour nourrissons et les préparations à des fins médicales spéciales destinés aux nourrissons, 2007). La méthode de la pharmacopée ne peut évidemment pas répondre aux exigences actuelles en matière de tests.

Par conséquent, la dose quotidienne pour les nourrissons décrite dans les instructions des préparations des fabricants P3 et P4 sont susceptibles d'amener Na à dépasser l'apport approprié, imposant un grand risque pour la santé. La variation de la teneur en Na entre les produits provient probablement de son introduction dans le processus de préparation. Les excipients contenant du sodium sont couramment utilisés dans les préparations de carbonate de calcium pour éviter précipitation rapide du carbonate de calcium. Cependant, un excès de Na provoque de l'hypertension et augmente la charge d'excrétion des reins, ce qui peut entraîner des troubles du métabolisme de l'eau et du sel chez les nourrissons et les jeunes enfants, et peut même provoquer des lésions organiques . Par conséquent, les préparations de carbonate de calcium pour enfants doivent éviter l'utilisation d'excipients contenant du sodium, des recherches plus approfondies sont nécessaires pour évaluer le Na en tant que élément introduit dans les produits de préparation de manière à éviter tout risques d'ingestion par les jeunes enfants.

La teneur en Fe dans les matières premières de carbonate de calcium est contrôlée par des points d'inspection spécifiques, mais aucun élément de contrôle pertinent n'est spécifié pour les produits de préparation. La teneur en Fe dans les préparations du fabricant P4 et celle dans la matière première carbonate de calcium léger du fabricant IV était de 472 et 424 ppm, respectivement, ce qui était proche des exigences de la limite pour les matières premières, ce qui indique que le Fe pourrait être introduit principalement à partir des matières premières ou des procédés de préparation. La teneur en Fe dans les produits du fabricant P4 était bien plus élevée que la limite requise de 11 ppm dans les préparations pour nourrissons (National Health Commission of the people's republic of china, 2010 standard for infant formula and formulation for special medical purposes intended for infants , 2007), ce qui indique certains risques pour les nourrissons.

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que les impuretés élémentaires dans les préparations de carbonate de calcium, telles que le Na et le Fe, sont principalement introduites dans le processus de préparation ainsi qu'à partir de les matières premières. Cependant, il n'y a pas de points d'inspection pertinents dans les normes pharmaceutiques actuelles ou de déclarations correspondantes dans les instructions de préparation, ce qui peut imposer un risque inconnu. et autres impuretés élémentaires doivent être ajoutés pour les préparations de carbonate de calcium en particulier celles qui sont étiquetées spécifiquement comme "à l'usage des enfants".

L'ICP-MS est une méthode d'analyse moderne recommandée par l'USP 233. Par conséquent, l'ICP-MS doit être choisie comme alternative aux méthodes traditionnelles pour les évaluations et le contrôle des impuretés élémentaires dans le carbonate de calcium de source minérale et sa préparation des produits.

2.4.CONCLUSION :

La méthode ICP-MS à haut débit pour la détermination quantitative de 62 impuretés élémentaires dans des échantillons de carbonate de Calcium à haute maturation a été développé et utilisée pour évaluer les préparations de carbonate de calcium utilisées pour les enfants (Y compris les nouveau-nés, les nourrissons, les tout-petits, les enfants et les adolescents) et deux types de matières premières (le carbonate de calcium léger et le carbonate de calcium broyer).

Les résultats obtenus pour les matières premières indiquent que des tests devraient être pour chaque lot car les niveaux de ces impuretés variaient considérablement d'un lot à l'autre en raison des variations de la source. Les impuretés élémentaires qui causent des problèmes toxicologiques dans les produits de carbonate de calcium destinés aux enfants ont tous satisfait aux exigences actuelles de la limite Q3D.

Des variations marquées ont été trouvées entre différents fabricants et lots, en particulier pour Pb, Na, et Fe. Des points d'inspection spécifiques doivent être mis en place, et des méthodes d'analyse modernes telles que l'ICP-MS doivent être utilisées, pour un contrôle de qualité précis afin d'assurer la sécurité de la supplémentation en calcium à long terme chez les enfants.

Les résultats indiquent que les médicaments pédiatriques doivent adhérer au Concept de "sur mesure" et que les normes de qualité des médicaments Pédiatriques devraient être formulées en plus des arômes et des formes pharmaceutiques pour garantir la sécurité des médicaments pédiatriques, en particulier pour les suppléments de calcium qui sont couramment utilisés.

Conclusion generale :

La présence des impuretés inorganiques indésirables dans les produits pharmaceutiques ne présente aucun bienfait thérapeutique, leurs apparitions dans un médicament peuvent être à l'origine de plusieurs sources, à savoir les matières premières, le matériel de fabrication ou de conditionnement, ainsi que d'autres sources possibles tel que l'eau... ces éléments indésirables peuvent nuire à la santé des patients si leurs concentrations dépassent les valeurs d'exposition inscrites dans la guideline ICH Q3D.

La détermination des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques, n'est pas une tâche facile. C'est en générale une détermination à l'état de trace qui nécessite des méthodes analytiques très sensible et très spécifique, De ce fait, l'application des techniques analytiques instrumentales modernes pour la détermination qualitative et quantitative des impuretés élémentaires a considérablement augmenté au cours des années. Cela est principalement dû aux nombreux avantages de ces méthodes instrumentales par rapport aux tests limites conventionnels qui était décrits dans les pharmacopées et qui ont été remplacés par la suite.

On trouve dans le chapitre « 233 » de l'USP deux procédures analytiques basées sur l'ICP (ICP-MS et ICP-AES) pour l'évaluation des niveaux d'impuretés élémentaires. Les méthodes analytiques basées sur l'ICP sont devenues largement utilisées en raison de leurs capacités à réaliser des analyses rapides et à déterminer plusieurs éléments à la fois. Ce qui les rend adaptées à l'analyse de routine.

Il existe aussi des techniques instrumentales qui évaluent les niveaux des impuretés élémentaires, à condition qu'elles répondent aux exigences de validation analytique. Parmi ces techniques instrumentales on distingue la SAA.

Plusieurs stratégies de préparation d'échantillons sont disponibles, notamment la dissolution dans l'eau ou dans les solvants organiques, la digestion acide assistée par microondes ; combustion dans des récipients fermes.

Résumé :

L'administration de médicaments présentant une forte teneur en impuretés élémentaires peut générer à long terme des signes de toxicité plus ou moins grave pour l'homme. Ces entités inorganiques peuvent être originaires de plusieurs sources ; à savoir les étapes de fabrication, les méthodes utilisées, les matières premières, les équipements de fabrication et de conditionnement... Elles n'ajoutent aucun bienfait thérapeutique.

Le conseil international d'harmonisation a développé la ligne directrice ICH Q3D intitulée « Directive concernant les impuretés élémentaires ».

Cette guideline permet de calculer les valeurs d'exposition journalière admissible ainsi que les concentrations maximales admissibles relatives à chaque impureté élémentaire, dans un but de limiter l'apparition des impuretés élémentaires et ainsi d'avoir un produit fini qui en présente des quantités négligeables voire exempt de ce type d'impureté.

La détermination des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques est justifiée et nécessaire car fait partie intégrante des paramètres pouvant définir la qualité d'un médicament.

Leur contrôle a toujours été nécessaire afin d'avoir un produit presque exempt d'impuretés élémentaires.

La difficulté d'obtenir des résultats fiables et reproductibles à partir des méthodes colorimétriques a conduit au développement de nouvelles procédures suffisamment sélectives et sensibles. Ainsi, les tests chimiques et colorimétriques ont été remplacés par des méthodes instrumentales permettant de mesurer de manière spécifique et quantitative chaque impureté élémentaire comme ; SAA, ICP.

Les mots clés: Impureté, méthode d'analyse, contrôle, Qualité.

Abstract:

The administration of drugs with a high content of elemental impurities may generate in the long term signs of more or less serious toxicity for humans. These inorganic entities may originate from several sources; namely the manufacturing steps, the methods used, the raw materials, the manufacturing and packaging equipment... They do not add any therapeutic benefit.

The International Harmonization Council has developed the ICH Q3D guideline entitled "Guideline for Elemental Impurities".

This guideline allows the calculation of acceptable daily exposure values as well as maximum allowable concentrations for each elemental impurity, with the aim of limiting the occurrence of elemental impurities and having a finished product with negligible or no quantities of this type of impurity.

The determination of elemental impurities in pharmaceutical products is justified and necessary because it is an integral part of the parameters that can define the quality of a drug.

Their control has always been necessary in order to have a product almost free of elemental impurities.

The difficulty of obtaining reliable and reproducible results from colorimetric methods has led to the development of new procedures that are sufficiently selective and sensitive. Thus, chemical and colorimetric tests have been replaced by instrumental methods allowing to measure in a specific and quantitative way each elemental impurity like ; SAA , ICP

Key words: Impurities, method of analysis, control, Quality

خلاصة

يمكن أن يؤدي تناول الأدوية التي تحتوي على نسبة عالية من الشوائب الأولية إلى ظهور علامات سمية أكثر أو أقل حدة لدى البشر على المدى الطويل. يمكن أن تنشأ هذه الكيانات غير العضوية من عدة مصادر ؛ وهي خطوات التصنيع ، والطرق المستخدمة ، والمواد الخام ، ومعدات التصنيع والتعبئة ... فهي لا تضيف أي فائدة علاجية. قام مجلس التنسيق الدولي بتطوير دليل ICH Q3D المعنون "التوجيه بشأن الشوائب الأولية". هذا الدليل يجعل من الممكن حساب قيم التعرض اليومية المسموح بها وكذلك الحد الأقصى للتركيزات المسموح بها فيما يتعلق بكل شوائب عنصرية ، من أجل الحد من ظهور الشوائب الأولية وبالتالي الحصول على منتج نهائي يقدم كميات ضئيلة أو حتى مجاني من هذا النوع من الشوائب . إن تحديد الشوائب الأولية في المنتجات الصيدلانية له ما يبرره وضروري لأنه جزء لا يتجزأ من المعايير التي يمكن أن تحدد جودة الدواء. لطالما كانت سيطرتهم ضرورية من أجل الحصول على منتج خالٍ تقريباً من الشوائب الأولية. أدت صعوبة الحصول على نتائج موثوقة وقابلة للتكرار من طرق القياس اللوني إلى تطوير إجراءات جديدة انتقائية وحساسة بدرجة كافية. وهكذا، تم استبدال الاختبارات الكيميائية واللونية بطرق آلية تسمح بقياس بطريقة محددة وكمية لكل شائبة أولية مثال ICP , SAA

الكَلِمَاتِ الْمِفْتَاحِيَّة :شوائب , طريقة التحليل, مراقبة, الجودة.

References :

- [1] 'Normes ICH d'enregistrement des médicaments - WikiMemoires'.
<https://wikimemoires.net/2012/04/normes-inter-conference-harmonization-enregistrement-des-medicaments/> (accessed Jul. 16, 2021).
- [2] 'Q3D : Directive concernant les impuretés élémentaires', p. 111.
- [3] 'Analyse d'impuretés élémentaires (contexte ICH Q3D)'. ce (accessed Jul. 16, 2021).
- [4] 'Intertek France'. <https://www.intertek-france.com/contact/> (accessed Jul. 16, 2021).
- [5] M. T. S. Madame THIAW, 'Méthodes d'analyse des iMpuretés éléMentaires dans les produits finis, les substances actives et excipients : revue systématique', UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 2020.
- [6] grosso amandine, 'Implémentation de la guideline ICH Q3D au sein d'un site de production pharmaceutique', FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE, 2018.
- [7] 'GROSSO Amandine. Thèse d'exercice 2018.pdf'. .
- [8] 'Agents chimiques CMR. Ce qu'il faut retenir - Risques - INRS'.
<https://www.inrs.fr/risques/cmr-agents-chimiques/ce-qu-il-faut-retenir.html> (accessed Jul. 17, 2021).
- [9] 'Fiches toxicologiques - Publications et outils - INRS'.
<https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox.html> (accessed Jul. 17, 2021).
- [10] 'Chapitre 63 - Les métaux: propriétés chimiques et toxicité'.
<http://www.ilocis.org/fr/documents/ilo063.htm> (accessed Jul. 17, 2021).
- [11] 'Mercure et composés minéraux (FT 55). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_55&s
(accessed Jul. 16, 2021).
- [12] 'Plomb et composés minéraux (FT 59). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_59
(accessed Jul. 16, 2021).
- [13] F. Harari *et al.*, 'Blood Lead Levels and Decreased Kidney Function in a Population-Based Cohort', *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 72, no. 3, pp. 381–389, Sep. 2018, doi: 10.1053/j.ajkd.2018.02.358.
- [14] 'Cobalt et composés minéraux (*) (FT 128). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_128
(accessed Jul. 16, 2021).
- [15] 'Dermatose professionnelles allergiques aux métaux'. 2011, [Online]. Available: INRS.
- [16] 'Nickel et composés (*) (FT 68). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_68
(accessed Jul. 17, 2021).
- [17] 'Accueil - ECHA'. <https://echa.europa.eu/fr/home> (accessed Jul. 17, 2021).
- [18] 'Nickel et composés (*) (FT 68). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_68
(accessed Jul. 17, 2021).
- [19] R. J. Lewis, Ed., *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, 1st ed. Wiley, 2007.
- [20] 'Sélénium et composés (FT 150). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_150
(accessed Jul. 17, 2021).
- [21] 'Baryum et composés (FT 125). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_125
(accessed Jul. 17, 2021).

- [22] 'Trioxyde de chrome (FT 1). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_1
(accessed Jul. 17, 2021).
- [23] 'Cuivre et composés (FT 294). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_294
(accessed Jul. 17, 2021).
- [24] R. F. McKnight, M. Adida, K. Budge, S. Stockton, G. M. Goodwin, and J. R. Geddes,
'Lithium toxicity profile: a systematic review and meta-analysis', *Lancet*, vol. 379, no.
9817, pp. 721–728, Feb. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(11)61516-X.
- [25] 'Lithium et composés (FT 183). Généralités - Fiche toxicologique - INRS'.
https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_183
(accessed Jul. 17, 2021).
- [26] 'pharmacopée Européenne 10^e édition tome 1'.
- [27] 'Minéralisateur Micro-onde', *HTDS*. <https://www.htds.fr/sciences-analytiques/spectroscopie-inorganique/preparation-des-echantillons/mineralisateur-microonde/> (accessed Jul. 18, 2021).
- [28] 'Minéralisation par digestion acide par micro-ondes pour spectromètre d'absorption atomique (AAS) | spectromètre par émission atomique (AES) et spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP-OES) | spectrométrie de masse à plasma inductif (ICP-MS)'.
https://www.gaz-analytique.com/nos-systemes-de-preparation-dechantillon-mineralisation-par-digestion-acide-par-microondes-pour-aas-icpoes-icpms-topex-pxl-61_77.html (accessed Jul. 18, 2021).
- [29] Kacimi M, 'Cours de Spectrométrie d'absorption atomique'.
- [30] 'La spectroscopie atomique Cours de Chimie analytique 3^eme année pharmacie Dr ADOUANI(1).pdf'.
- [31] 'La spectroscopie atomique Cours de Chimie analytique 3^eme année pharmacie Dr ADOUANI(1).pdf'.
- [32] 'SPECTROMÉTRIES D'ABSORPTION ET D'ÉMISSION ATOMIQUES'. 3^e année Pharmacie – /2017 2016.
- [33] '5991-6593_Agilent_Atomic Spectroscopy_Hardware_FR(1).pdf'.
- [34] 'L'analyse des métaux par voie humide ICP-OES', *MetalBlog*, Apr. 02, 2018.
<https://metalblog.ctif.com/2018/04/02/lanalyse-des-metaux-par-voie-humide-icp-oes/>
(accessed Jul. 24, 2021).
- [35] 'Plasma à couplage inductif (ICP) pour analyse environnementale', *Bronkhorst*.
<https://bronkhorst.com/fr-fr/blog/plasma-a-couplage-inductif-icp-pour-analyse-environnementale/> (accessed Jul. 23, 2021).
- [36] 'Analyse par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS)'.
https://iramis.cea.fr/Phoce/Vie_des_labos/Ast/ast_sstechnique.php?id_ast=348 (accessed Jul. 24, 2021).
- [37] 'SFSTP PHARMA - VAL ANA - 2006 - PART II final.pdf'.