

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahlab de Blida



Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie et physiologie cellulaire
Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en
Biologie
Option : génie biologie

Thème

*Contrôle de qualité physicochimique, microbiologique,
toxicologique et la sécurité d'un antibiotique
PRIMAZOL[®] (Sulfaméthoxazole 400mg et Triméthoprime 80mg).*

Présenté par :
M^{elle} Taibi Amel

Soutenu le : 23 /09/2017

Membres du jury :

Présidente	:	M ^{me} Amokrane A.	MAA	USDB
Examineur	:	Mr Boukhatem M N.	MCA	USDB
Promotrice	:	M ^{me} Benazouz F.	MAA	USDB
Co-promotrice	:	M ^{lle} Khireddine H.	Analyste	SAIDAL

Promotion 2016 – 2017

Remerciements

Louange au bon Dieu de nous avoir ouvert les portes du savoir et nous avoir donné la force, la patience ainsi que le courage afin de parvenir à terminer ce travail.

*Nous adressons nos respects, notre gratitude et nos plus forts remerciements à notre promotrice **M^{me}. Benazouz F.** qui on à exprime toute notre gratitude, pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi et aussi pour son entière disponibilité.*

A tous ceux qui ont fait l'honneur de composer le jury chargé d'examiner la soutenance :

***M^{me} Amokrane A.** d'avoir bien voulu présider ce jury et de répondre à tout appel de ses étudiants.*

***Mr Boukhatam. MN.** pour l'intérêt qu'il a bien voulu manifester en acceptant de participer à ce jury en tant qu'examinateur.*

*A notre CO -promotrice **M^{lle} Khireddine H** Pour nous avoir fait confiance, guidé et encouragé tout au long de notre stage.*

*Nous voudrions aussi témoigner notre profond remerciement à **M^{me} Chadar** qui nous a vraiment aidé lorsqu'on avait besoin, nous lui sommes donc très reconnaissantes.*

*Nous tenons à exprimer notre vif remerciement à **M^{me} Zellat R,** Directrice de laboratoire de contrôle de qualité, **Mr Nouas S.** chef de département de laboratoire de physicochimie.*

Nos remerciements s'adressent aussi à tous les membres du laboratoire de contrôle de qualité du groupe SAIDAL de l'unité de gué de Constantine filiale BIOTIC.

Nous aimerions remercier le chef d'option et le chef de département de biologie et physiologie cellulaire de l'université de SAAD DAHLÈB.

Les enseignants de l'université qui ont contribué à notre formation, durant notre cursus, qu'ils trouvent ici l'expression de notre gratitude et de notre reconnaissance.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma très chère maman qui m'a aidé grâce à son soutien moral

*Mon très cher père, pour avoir toujours été présent pour moi et qui
m'a déployé tous les moyens possibles pour ma réussite*

Mes sœurs pour m'avoir aidé et m'encouragée.

Mes frères qui se font toujours du souci pour moi.

Tous mes amis(e) s.

La promotion de génie biologie (2016-2017).

Amel



Résumé

Ce travail a porté sur le contrôle de qualité d'un antibiotique sous forme comprimé, il s'agit de PRIMAZOL 400mg /80mg qui est un anti-infectieux, en se basant sur la vérification de la qualité physicochimique des matières premières (une caractérisation, une identification par spectrophotométrie d'absorption dans infrarouge et le dosage par titrimétrie), la qualité physicochimique du produit semi-fini (le dosage par chromatographie liquide à haute performance) et la qualité physicochimique (une caractérisation et le dosage par chromatographie liquide à haute performance), microbiologique (test de pureté) et toxicologique (test d'innocuité) de produit fini, au sein de l'unité de Gué de Constantine de la filiale Biotic de groupe SAIDAL. Pour avoir que ce produit mérite une autorisation de commercialisation délivrer par le laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques en Algérie.

Les résultats de contrôle physicochimique des matières premières, le produit semi-fini (dosage : 97.52% pour Sulfaméthoxazole et 96.35% pour Triméthoprim) et le produit fini (dosage : 404mg/cp pour Sulfaméthoxazole et 79.41mg /cp Triméthoprim) sont conformes aux normes décrites par la Pharmacopée Européenne **(2008) et (2011)**.

Les résultats de contrôle de pureté microbienne de produit fini ont montré une absence totale des germes recherchés.

En outre, le test toxicologique confirme l'innocuité de produit.

Mots clés : PRIMAZOL 400mg/80mg, anti –infectieux, physicochimique, toxicologique et microbiologique.

Summary

This work focused on the quality control of an antibiotic in compressed form, PRIMAZOL 400mg / 80mg which has antibacterial and antiparasitic activity, based on the verification of the physicochemical quality of the raw materials, the product semi-finished product and the physicochemical, microbiological and toxicological quality of the finished product, within the Gué de Constantine unit of SAIDAL Group's Biotic subsidiary. To have that happens merit a marketing authorization (AMM) to be issued by the national laboratory of control of the pharmaceutical products (LNCPP) in Algeria.

The results of physicochemical control of the raw materials, the semi-finished product and the finished product comply with the standards described by the European Pharmacopoeia (2008) and (2011).

The results of microbiological control of the finished product showed its purity. In addition, the toxicological test confirms the safety of the product.

Key words: PRIMAZOL 400mg / 80mg, AMM, physicochemical, toxicological and microbiological.

الملخص

تضمن هذا العمل على مراقبة الجودة للمضادات الحيوية في شكل مضغوط، بريما زول 400 مع 80/مغ التي لديها نشاط مضاد للجراثيم ومضاد الطفيليات، على أساس التحقق من الجودة الفيزيائية والكيميائية للمواد الخام، والمنتج النصف النهائي، والجودة الفيزيائية والكيميائية والمكروبيولوجية السمية للمنتج النهائي في وحدة جسر قسنطينة لفرع بيوتيك لمجمع صيدل. لترى هل يستحق الترخيص التسويقي (ر ت) الذي سيصدره المختبر الوطني لمراقبة المنتجات الصيدلانية في الجزائر.

نتائج الاختبار الفيزيائية للمواد الخام والمنتج النصف المصنع والمنتج النهائي تتوافق مع المعايير التي وضعتها دستور الأدوية الأوروبي (2008) و (2011) أظهرت نتائج السيطرة المكروبيولوجية للمنتج النهائي نقائها. بالإضافة إلى ذلك، فإن اختبار السمية يؤكد سلامة المنتج.

الكلمات الرئيسية : بريمازول 400 مغ / 80 مغ ، ر ت، الفيزيائية والكيميائية و المكروبيولوجية السمية .

Liste des figures

Figure (01): Spectre d'absorption du Sulfaméthoxazole par « essai ».....	40
Figure (02) : Spectre d'absorption du Sulfaméthoxazole par IR « SCR ».....	40
Figure(03) : comparaison de l'absorption du Sulfaméthoxazole par IR avec sa substance de référence.....	41
Figure (04) : Spectre d'absorption du Triméthoprime par IR« essai ».....	43
Figure(05) : Spectre d'absorption du Triméthoprime par IR« SCR ».....	43
Figure(06) : comparaison de l'absorption du Triméthoprime par IR avec sa substance de référence.....	43
Figure (07) : Chromatogramme représentant le dosage de "PRIMAZOL 400mg /80mg " dans la solution témoin.....	Annexe 03
Figure (08): Chromatogramme représentant le dosage de produit fini "PRIMAZOL 400mg/80mg "	Annexe 03
Figure (09) : Chromatogramme représentant le dosage de "PRIMAZOL 400mg /80mg " dans la solution témoin.....	Annexe 03
Figure (10) : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini "PRIMAZOL 400mg/80mg " pour cp1.....	Annexe 03
Figure (11) : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini "PRIMAZOL 400mg/80mg " pour cp 2.....	Annexe 03
Figure (12) : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini "PRIMAZOL 400mg/80mg " pour cp 3.....	Annexe 03
Figure (13) : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini "PRIMAZOL 400mg/80mg " pour cp 4.....	Annexe 03
Figure (14) : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini "PRIMAZOL 400mg/80mg " pour cp 5.....	Annexe 03
Figure(15): Chromatogramme représentant le dosage de produit fini "PRIMAZOL 400mg/80mg " pour cp 6.....	Annexe 03

Liste des tableaux

Tableau I : classification des antibiotiques.....	5
Tableau II : classification des antibiotiques.....	6
Tableau III : Spectre d'action des sulfamides.....	9
Tableau IV : Caractéristique de PRIMAZOL400mg/80mg.....	10
Tableau V : spectre d'activité antibactérienne.....	12
Tableau VI : Procédé de fabrication de PRIMAZOL 400mg/80mg au niveau d'unité BIOTIC.....	16
Tableau VII : date, numéro, quantité de prélèvement et contrôles effectués.....	17
Tableau VIII : Résultats de contrôle physicochimique du principe actif (Sulfaméthoxazole)	39
Tableau IX : Résultats de contrôle physicochimique du principe actif (Triméthoprimine).....	42
Tableau X : Résultats de contrôle physicochimique du grain.....	45
Tableau XI : Résultats de contrôle physicochimique du produit fini.....	46
Tableau XII : Résultats de contrôle microbiologique de produit fini.....	48
Tableau XIII : Résultats de contrôle toxicologique de produit fini.....	49

Glossaire

- ❖ **Bactériostatique** : qui empêche la multiplication des bactéries sans les détruire (**Landry, 2007**).
- ❖ **Bactéricide** : qui tue les bactéries (**Landry, 2007**).
- ❖ **BPF** : Normes applicables aux fabricants de produits pharmaceutiques, établies par l'OMS et de nombreux gouvernements ; elles comprennent des critères relatifs au personnel, aux locaux, à l'équipement, au matériel, aux opérations de fabrication, à l'étiquetage, au conditionnement, au contrôle de la qualité et, dans la plupart des cas aux tests de stabilité. Elles garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente et selon les normes adaptées à leur emploi et requise par l'AMM (**AIACHE et al., 2001**).
- ❖ **Cystite** : est une inflammation de la vessie. La cystite est le plus souvent d'origine bactérienne (colibacilles, naturellement présents dans l'intestin) ; mais peut aussi être due à un agent toxique traitement anti-cancéreux ou radiothérapie. C'est une infection fréquente chez la femme, car elle possède un urètre court, ce qui augmente le risque d'infection urinaire. Cette infection doit être traitée le plus rapidement possible afin d'éviter qu'elle ne se propage vers les circuits rénaux (**Talbert et Willoquet, 2003**).
- ❖ **Fièvre typhoïde** : ou typhus abdominal est une maladie infectieuse causée par une bactérie de la famille Entérobactérie, du genre des salmonelles, et dont les espèces responsables sont *Salmonella enterica* – Typhi ou Paratyphi A, B, C. *Salmonella enterica* Typhi est encore appelée bacille d'Eberth (**Landry, 2007**).
- ❖ **Les infections urogénitales** : se sont des infections touchant l'appareil urinaire. L'infection débute généralement dans l'urètre ou dans la vessie. On parle d'infection ascendante si l'agent pathogène se propage respectivement à l'uretère. Dans la plupart des cas (80-90%), l'infection résulte de bactéries (E. Coli) provenant des intestins (**Talbert et Willoquet, 2003**).
- ❖ **Pharmacocinétique** : discipline ayant pour objet l'étude descriptive qualitative et quantitative du devenir d'un médicament dans l'organisme auquel il est administré (**Anonyme, 2013**).
- ❖ **Pharmacodynamique**: discipline qui s'intéresse à l'étude des effets et les mécanismes biochimiques et physiologiques du médicament et leurs effets sur l'être vivant (**Anonyme, 2013**).

- ❖ **Pharmacopée** : c'est un recueil de norme admises au niveau internationale, portant sur l'activité et la pureté des produits pharmaceutiques qui rentrent dans le commerce internationale (**Anonyme,2005**).
- ❖ **Pneumocystis carinii** : (ou *Pneumocystis jirovecii*) est un champignon responsable d'une forme de pneumonie appelée pneumocystose. Cette infection touche particulièrement les populations fragiles telles que les enfants, les personnes âgées, les personnes infectées par le VIH (sida) et les greffés. Elle se manifeste par une toux sèche, de la fièvre, de la fatigue, une perte de poids et des troubles respiratoires. Le traitement médical repose sur le co-trimoxazole et la pentamidine (**Bertram, 2000**) .

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

AMM :Autorisation de Mise sur le Marché.

ADN :Acide désoxyribonucléique.

ARN :Acide ribonucléique .

BPF :Bonnes Pratiques de Fabrication.

CASO :Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja.

CT : Correspondance .

Cs : cendres sulfuriques .

Dg : Dosage .

Dgt : dosage théorique.

F : Friabilité

GDC:Gué de Constantine.

HPLC :Chromatographie liquide à haute performance .

IR:Infra-rouge.

ISO:International Standard Organisation.

LNCPP : laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques.

M:Molarité.

MM : Masse moyen.

Mm : Masse molaire.

N:Normale.

N : Nombre des comprimés pesés.

OMS :Organisation Mondiale de la Santé.

R :Solution pure.

Pb : plombe

ppm : Particule Par Millions.

Pd : perte à la dessiccation .

PV : poids vide .

Pe : prise d'essai .

Pf: poids final .

Pt : Prise d'essai de témoin.

P₁ : Poids du premier comprimé.

P₂ : Poids du deuxième comprimé.

P₁₀ : Poids du 10^{ème} comprimé.

P_m : poids moyen.

P_i:Poids initial des comprimés.

P_{et}: prise d'essai de témoin.

P_{ec}: poids d'un comprimé

P.A : Principe actif.

UV : un spectrophotomètre d'absorption dans l'ultra violet.

SCR: Substance chimique de référence.

Se : Surface essai.

St : Surface témoin.

TD : Taux de dissolution.

Te : le titre.

T₁ : Pourcentage de l'uniformité de masse.

T₂ : Pourcentage de l'uniformité de masse.

TS : titrantsolution.

UFC: Unité formant colonie par gramme.

V: Volume.

VRBG:milieu gélosé à la bile-violet cristallisé –rouge neutre avec glucose.

VIH :virus de l'immunodéficience humaine.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Etude bibliographique :	
I-1-Généralité sur les médicaments	3
I.1 .1.Définition	3
I.1.2. Principaux composants.....	3
I.1.3. Antibiotiques	3
I.1.4. Le spectre d'action des antibiotiques	4
I.1.5. Mécanismes d'action des antibiotiques.....	4
I.1.6. Classification des antibiotiques	5
I.1.7. Sensibilité et résistance aux antibiotiques	7
I-2. Sulfamides	7
I.2. 1 .Définition	7
I.2.2. Association sulfamide et triméthopriime	7
I.2.3. Mode d'action des sulfamides	8
I.2.4.Spectre d'action des sulfamides	9
I.3. PRIMAZOL 400mg/80mg	10
I.3.1.Composition.....	10
I.3.2. Indication	11
I.3.3.Contre-indication.....	11
I.3.4. Posologie et mode d'administration	11
I.3.5.Pharmacodynamique	12
I.3.6. Pharmacocinétique	13
I.4. Contrôle pharmaceutique	14
I.4.1 .Définition de la qualité.....	14
I.4 2. Assurance de la qualité.....	14
I.4.3. Contrôle de la qualité	14
I.4.3. 1. Définition	14
I.4.3. 2. Les niveaux de contrôle dans industrie pharmaceutique	14
I.4.3.3. Différents types de contrôles de qualité.....	15
I.4.3.4. Autorisation de mise sur le marché.....	15
I.4.4. Le procédé de fabrication de PRIMAZOL 400mg/80mg.....	16
Chapitre II : Matériel et méthodes :	
II.1. Matériel.....	17
II.1.1. Matériel biologique.....	17
II.1.2 .Matériel non biologique.....	17
II.2. Méthodes	17

II.2 .1 .Echantillonnage	17
II.2.2. Contrôle physicochimique.....	18
II.2.2.1. Matières premières.....	18
II.2.2.2. Contrôle de produit semi- fini.....	26
II.2.2.3. Contrôle du produit fini.....	28
II.2.3. Contrôle microbiologique	34
II.2.3.1. Contrôle microbiologique de PRIMAZOL 400mg/80mg.....	34
II.2.4. Contrôle toxicologique du produit fini	38

Chapitre III : Résultats et discussion:

III.1. Contrôle physicochimique.....	39
III.1.1. Contrôle physicochimique des matières premières.....	39
III.1.2. Contrôle physicochimique du produit semi- fini.....	45
III.1.3. Contrôle physicochimique du produit fini.....	46
III.2. Contrôle microbiologique du produit fini.....	48
III.3. Contrôle toxicologique du produit fini.....	49

Conclusion.....	51
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Introduction :

Un médicament est toute substance active utilisée dans un but préventif ou curatif pour combattre les maladies, blessures, pathologies individuelles et épidémies. Sa fabrication doit suivre un procédé bien défini afin d'arriver à la qualité requise et éviter tous les risques possibles sur la santé du patient (**LECHAT, 2006**).

Pour donner l'effet souhaité, ce dernier doit être efficace et de bonne qualité, car l'utilisation de médicament dont la qualité ne répond pas aux normes entraîne un échec thérapeutique ou favorise l'apparition d'une résistance dans le cas des antibiotiques, qui peut dans certains cas être mortelle (**AIACHE et al., 2001**).

Pour cela, l'industrie pharmaceutique doit répondre à des exigences réglementaires et doit disposer d'un système de contrôle et d'assurance qualité qui permettra d'appliquer les règles définies dans les bonnes pratiques de fabrication (BPF) et les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) afin d'atteindre un haut niveau de maîtrise de qualité, de sécurité et d'efficacité des produits pharmaceutiques (**Feinberg, 2001**).

Le contrôle de qualité et de la sécurité d'un médicament est une étape essentielle pour assurer son efficacité et son innocuité. C'est une des missions principales du laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques (LNCPP), produits localement ou importés afin de donner l'autorisation de commercialisation.

Dans cette optique nous avons établi notre problématique en se posant la question suivante :

Le PRIMAZOL 400 mg/80mg qui représente un antibiotique non obligatoirement stérile mérite-il d'avoir une autorisation de commercialisation délivrée par le laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques (LNCPP) en Algérie ?

Dans le but de répondre à notre problématique, nous avons tracé les objectifs suivants qui consistent à :

Vérifier la qualité physico-chimique des matières premières et de produit semi-fini, ainsi que la qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique de produit fini "PRIMAZOL 400mg/80mg", au niveau de l'unité de Gué de Constantine de la filiale BIOTIC de groupe SAIDAL.

Notre étude est répartie en trois chapitres :

-Un premier chapitre qui renferme les rappels bibliographiques nécessaires à la compréhension et à la discussion de nos résultats.

-Une partie expérimentale qui établit le matériel et la méthode expérimentale dans l'étude physicochimique, microbiologique et toxicologique.

-Et en fin, un dernier chapitre qui résume les résultats et discussion nécessaires pour comparer nos résultats par rapport aux normes exigées par la pharmacopée européenne 2008 et 2011.

I-1 – Généralités sur les médicaments :**I.1.1. Définition :**

Le médicament est 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 Hir, 2001).

L'OMS donne une définition plus restrictive du médicament, en considérant celui-ci comme étant toute substance ou produit utilisé pour modifier ou explorer les systèmes physiologiques ou les états pathologiques pour le bénéfice de celui qui reçoit la substance (Hellali, 2002).

I.1.2. Principaux composants :

Le médicament est composé par un ou plusieurs principe(s) actif(s) et d'un ou plusieurs excipient(s). D'autres substances y sont incorporées telles que les additifs (Aiache et al., 2001).

I.1.2.1. Principe actif :

Est une molécule biologique, minérale ou organique, naturelle ou synthétique qui confère au médicament son activité thérapeutique (Le Hir, 2001).

I.1.2.2. Excipient :

Tous composants, autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur (appelé véhicule dans les préparations liquides et base dans les préparations solides et semi solides) (Moulin et Coquerel, 2002).

I.1.3. Antibiotique :**I.1.3.1. Définition :**

Un antibiotique se définit comme une substance élaborée par des organismes vivants (bactéries, mycètes, animaux, plantes) ou une substance analogue obtenue par voie hémisynthétique ou synthétique, capable même à très faible dose d'inhiber la multiplication des micro-organismes (activité bactériostatique) ou d'entraîner leur destruction (activité bactéricide) (Talbert et Willoquet, 2003).

• Antibiotique et Antiseptique :

Il existe, bien souvent une confusion entre antibiotique et antiseptique, l'antibiotique a une action lente au bout de quelques heures, sélective sur les bactéries seulement et à la température corporelle (37°C). Au contraire, l'antiseptique agit d'une manière brutale et non spécifique sur la majorité des micro-organismes (bactéries, champignons et virus) ; il agit rapidement en quelques minutes et non pas forcément à 37°C (Giraud, 2004).

- **Antibiotique et Antifongique :**

L'antibiotique a une action sélective sur les bactéries seulement, il a une activité bactériostatique ou bactéricide. L'antifongique agit sur les champignons seulement, il a une activité soit fongistatique soit fongicide (**Cohen et Jacquot, 2008**).

I.1.4. Le spectre d'action des antibiotiques :

Il correspond à l'ensemble des germes sur lequel l'antibiotique exerce ses activités bactériostatique et bactéricide. Le spectre est d'autant plus large que le nombre d'agents infectieux sensibles à l'antibiotique est important et diversifié. Il peut être étroit ou spécifique, moyen, large, très large.

Un spectre étroit est parfois très intéressant, il ne perturbe pas la flore normale mais peut s'avérer inefficace lors d'une antibiothérapie prophylactique ou après une prescription pronostique (sans antibiogramme) (**Florence et al., 2008**).

I.1.5. Mécanismes d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques agissent sur les micro-organismes par plusieurs mécanismes dont certains sont connus : sur la paroi bactérienne, sur la membrane cytoplasmique, sur les acides nucléiques, sur le métabolisme intermédiaire.

- ❖ **Action sur la paroi bactérienne :** la synthèse des mucopeptides de la paroi bactérienne est perturbée par l'inhibition de certaines enzymes: peptido-glocanne-synthétase et transpeptidase. Certains antibiotiques agissent par ce mécanisme de préférence sur les bactéries jeunes dont la paroi est en cours d'édification. Les Cocci Gram+ dont la paroi est riche en mucopeptides sont plus sensibles que les Cocci Gram- (**Cohen et Jacquot, 2008**).
- ❖ **Action sur la membrane cytoplasmique :** certains antibiotiques se fixent sur les phospholipides de la membrane cytoplasmique, entraînant une altération de la perméabilité de cette membrane. Les constituants cellulaires s'échappent du cytoplasme bactérien, ce qui provoque la mort de la cellule (**Cohen et Jacquot, 2008**).
- ❖ **Action sur la réplication de l'ADN :** certains antibiotiques bloquent la synthèse de l'ADN en inhibant la topo-isomérase II (ADN-gyrase) en empêchant la relaxation de l'hélice d'ADN super-enroulée dans le sens positif, nécessaire pour une transcription et une réplication normale (**Bertram, 2000**).
- ❖ **Action sur la traduction de l'ARN messager :** l'ARN messager ou de transfert sont les cibles des antibiotiques et les mécanismes de traduction de l'ARN messager sont troublés. Certains antibiotiques se fixent sur la sous-unité ribosomale 30S et d'autres interviennent sur la sous-unité 50S (**Cohen et Jacquot, 2008**).

❖ **Action sur le métabolisme intermédiaire** : certains antibiotiques inhibent un système enzymatique (dihydrofolate réductase, mycolate synthèse, etc.) (**Bertram, 2000**).

I.1.6. Classification des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : la structure chimique, le mécanisme d'action et l'effet thérapeutique en plusieurs grandes familles, elles mêmes divisées en groupes. La classification la plus fréquemment rencontrée est résumée dans le tableau I et tableau II.

Tableau I : classification des antibiotiques.

Famille	Groupe	Exemple	Spectre d'activité	Mécanisme d'action
Béta-lactamines	Les pénames les céphèmes les pénèmes les monobactames	Les pénicillines Les céphalosporines Imipénèm Aztréonam	étroit étroit large étroit	Inhibition de système enzymatique Bactéricide
Aminosides	Streptomycine Gentamicine Tobramycine Nétilmicine	Streptomycine Gentaxine Tobraxine Nétilmicilèn	Etroit	Action sur la sous-unité 30S du ribosome Bactéricide
Tétracyclines ou cyclines	Cyclines	Tétracycline Doxycycline minocycline	Très large	Inhibition de système enzymatique et une action sur l'ARN Bactériostatique

Tableau II : classification des antibiotiques (suite).

Famille	Groupe	Exemple	Spectre d'activité	Mécanisme d'action
Macrolides	Erythromycine Spiramycine Josamycine Roxithromycine	Erybeson Spiroxe Josacine Roxide	Etroit	Action sur la sous-unité 50S du ribosome Bactériostatique
Quinolones	Quinolones de 1 ^{er} génération Fluoroquinolones	Acide nalidixique, Acide pipémique Ciprofloxacine, Ofloxacine	Etroit	Action sur l'ADN Bactéricide
Phénicolés	Thiamphénicol	Thiamphénicol	Large	Action sur l'ARN Bactériostatique
Nitroimidazolés	Nitro-imidazol	Métronidazole Ornidazole	Etroit	Action sur l'ADN Bactéricide
Glycopeptides	Voncomycine Teicoplanine	vancocine Targocid	Etroit	Action sur la paroi et sur la membrane cytoplasmique Bactéricide
Sulfamides	Sulfametoxazole Sulfadiazine	Cotrimazol Eusaprim	Large	Inhibe la synthèse de l'acide folique -Bactéricide
Anti-tuberculeux	Isoniazide Rifampicine Ethambutol Pyrazinamide	Rimifon Rimactan Myambutol Pirilène	Très étroit Large Etroit Etroit	action sur l'ADN Bactéricide

(Gazengel ,2007; Mathieu et Fonteneau ,2008).

I.1.7. Sensibilité et résistance aux antibiotiques :

I.1.7.1. Sensibilité :

La sensibilité d'une bactérie à un antibiotique est la faculté pour cette bactérie de ne pas supporter une concentration minimale de l'antibiotique (**Florence et al., 2008**).

I.1.7.2. Résistance aux antibiotiques :

La résistance d'une bactérie à un antibiotique est la capacité de cette bactérie de supporter sans dommage une concentration d'antibiotique supérieure à celle que l'on peut réaliser dans l'organisme. Cette résistance peut être naturelle, acquise ou croisée (**baudry et Brézellec, 2006**).

➤ Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou innée est une résistance constitutionnelle à un antibiotique d'une espèce bactérienne, sans aucun traitement préalable par cet antibiotique, la structure et le métabolisme bactériens ne permettent pas l'activité de l'antibiotique (**Florence et al., 2008**).

➤ Résistance acquise :

La résistance acquise apparaît à la suite d'un contact progressif avec l'antibiotique par sélection d'un mutant résistant (chromosomique) ou à la suite d'échanges d'information génétique codant la résistance (plasmide) (**baudry et Brézellec, 2006**).

➤ Résistance croisée :

La résistance est croisée pour une même famille des antibiotiques, la résistance d'un germe à un antibiotique peut entraîner la résistance à d'autres antibiotiques du même groupe. Il n'est jamais employé lors d'une antibiothérapie deux antibiotiques de la même classe au même temps (**Cohen et Jacquot, 2008**).

I.2. Sulfamides :

I.2.1. Définition :

Les sulfamides ou sulfonamides sont des molécules bactériostatiques obtenues uniquement par synthèse. Aujourd'hui, ils sont souvent combinés aux diaminopyridines, autres molécules bactériostatiques afin d'augmenter leur activité et réduire le risque d'émergence de souches résistantes. En thérapeutiques, les sulfamides se retrouvent dans trois classes médicamenteuses : les anti-infectieux, les antidiabétiques et les diurétiques (**Selloum et Faure, 2015**).

I.2.2. Association sulfamide et triméthoprime :

On peut associer deux antibiotiques afin de retarder l'apparition d'une résistance microbienne, afin d'assurer une couverture antibiotique en urgence devant une infection à des

germes inconnus, afin de rechercher une synergie et de limiter les effets indésirables (**Cohen et Jacquot ,2008**).

I.2.3. Mode d'action des sulfamides :

Les micro-organismes sensibles ont besoin de l'acide para-amino-benzoïque (PABA) extracellulaire pour former de l'acide dihydrofolique, étape essentielle de la production des bases puriques et pyrimidiques. Les sulfamides et les diaminopyridines agissent au niveau d'étapes successives de la synthèse de l'acide folique.

- Les sulfamides sont des analogues structuraux du PABA qui inhibent la synthèse d'acide dihydroptéroïque en inhibant de manière compétitive la dihydroptéroate synthétase.
- Les diaminopyridines (triméthoprime) sont des analogues de l'acide dihydrofolique inhibent spécifiquement de manière compétitive la dihydrofolate réductase (**Florence et al., 2008 ; Mouton et al., 2000**).

Le schéma I résume les étapes de mode d'action des sulfamides sur le métabolisme de l'acide folique.

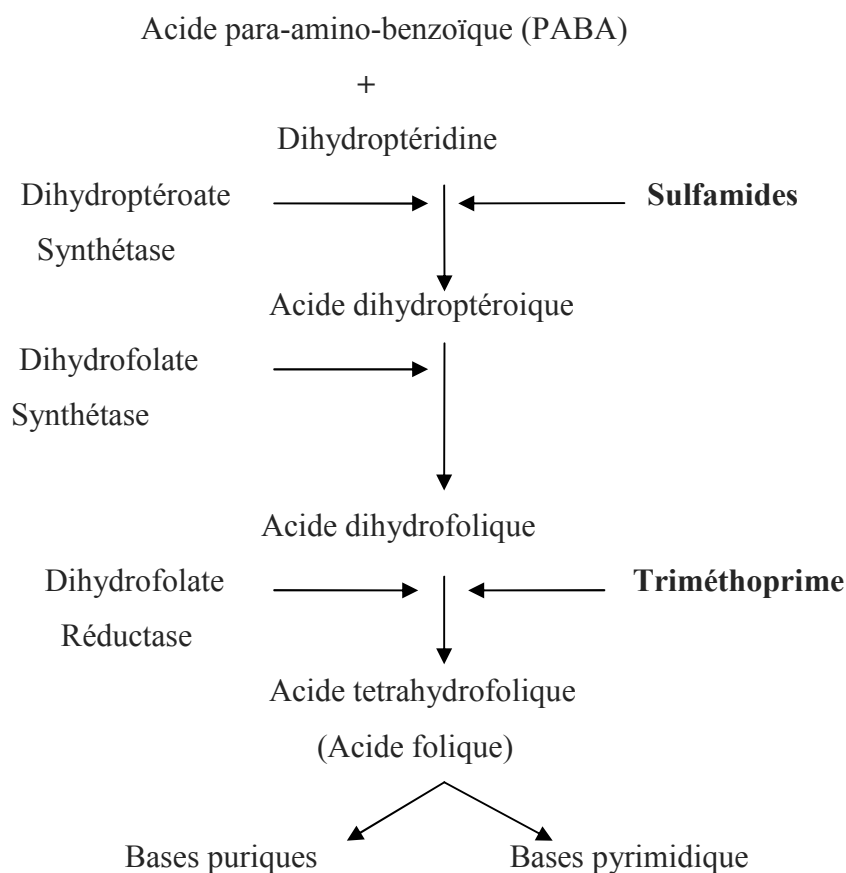


Schéma I : mode d'action des sulfamides et de triméthoprime sur le métabolisme de l'acide folique (**Florence et al., 2008 ; Mouton et al., 2000**).

I.2.4. Spectre d'action des sulfamides :

L'efficacité de l'association est notablement accrue, le spectre est large et les souches résistantes sont beaucoup moins nombreuses qu'avec les sulfamides seuls. Le tableau III résume le spectre d'action des sulfamides (Moulin et Coquerel, 2002).

Tableau III : Spectre d'action des sulfamides.

Bactéries	Souvent sensible	Parfois sensible	Toujours résistants
Gram+	Bacillus anthracis Bacillus pestis Clostridium tetani et Clostridium perfringens Corynebacterium diphteriae Listeria	Streptocoque A Pneumocoque Neissiria méningocoque et Neisseria gonocoque Serratia Klebseilla Enterobacter	Staphylocoques Mycobacterium tuberculosis et Mycobacterium leprae Mycoplasme Tréponèmes et Leptospires
Gram -	Escherichia coli Proteus et Yersinia Salmonella et Shigella Haemophilus influenzae	Pas d'espèce	Bordetella pertussis Francisella tularensis Borrelia Pseudomonas Campylobacter Bacteroides Brucella
Divers	Toxoplasma gandii Pneumocystis carinii Chlamydia trachomatis Histoplasme	Quelques souches d'hématozoaire (paludisme)	Rickettsia Amibes Fungi Virus

(Moulin et Coquerel , 2002).

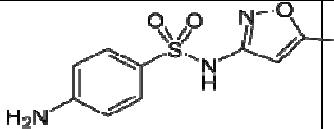
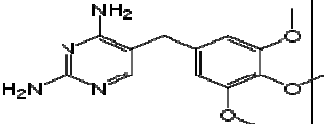
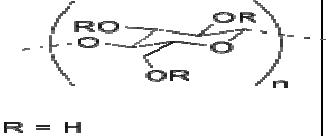
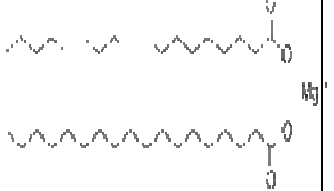
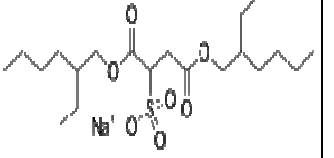

I.3. PRIMAZOL 400mg /80mg :

Le PRIMAZOL est un anti-infectieux, il se présente sous forme de comprimé blanc, semi bombé et lisse. Chaque boîte contient 20 comprimés sous plaquettes (**Dictionnaire CRD, 2005**).

I.3.1. Composition :

Le PRIMAZOL est composé de deux principes actifs « Sulfaméthoxazole 400mg et Triméthoprime 80mg » et de quatre excipients « carboxyméthyl amidon sodique , dioctyl sulfasuccinate de sodium , stéarate de magnésium et polyxinypyrolidone » comme l'indique le tableau IV .

Tableau IV: Caractéristique de PRIMAZOL 400mg/80mg.

composants	Rôle	Formule chimique	Formule développé	Masse molaire
Principe actif 1 : Sulfaméthoxazole	Activité thérapeutique	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$		253,3g/mole
Principe actif 2 : Triméthoprime	Activité thérapeutique	$C_{14}H_{18}N_4O_3$		290,3 g/mole
Excipient 1 : Carboxyméthyl amidon sodique	Délitant	$(CH_2CO_2H)_n$		22,95g/mole
Excipient 2 : Stéarate de magnésium	Lubrifiant	$C_{36}H_{70}MgO_4$		591,25g /mole
Excipient 3 : Dioctyl-sulfasuccinate de sodium	Liant	$C_{20}H_{37}NaO_7S$		444,6g/mole
Excipient 4 : Polyxinypyrolidone K90	Liant	$C_{6n}H_{9n+2}N_nO_n$		10000g/mole

(Dictionnaire CRD, 2005).

I.3.2. Indications :

Elle procède de l'activité antibactérienne et antiparasitaire du produit, des caractéristiques pharmacocinétiques du sulfamétoxazole et du triméthoprime. Selon les indications et les germes en cause, il convient d'utiliser en première intention l'antibiotique présentant le meilleur rapport bénéfice/risque. Elles sont limitées aux infections de l'adulte dues aux germes sensibles (**Dictionnaire CRD, 2005**).

• Traitement curatif :

-Pneumocystis carinii ;

-Infections urogénitales de l'homme, notamment les prostatites,

-Prévention des infections à Pneumocystis carinii chez l'immunodéprimé, Chez les patients infectés par le VIH et à risque de pneumocystose ;

En cas de greffe de moelle osseuse ou de transplantation d'organe.

D'autre part, en tenant compte du rapport bénéfice/risque par rapport à d'autres produits, de l'épidémiologie et des résistances bactériennes observées dans ces pathologies :

-Infections urinaires hautes et basses de la femme, notamment traitement monodose de la cystite aigue non compliquée de la femme de moins de 65ans ,

-Des otites et sinusites mais uniquement après documentation bactériologique,

-Certaines infections broncho-pulmonaires,

-Infections digestives et de la fièvre typhoïde.

I.3.3. Contre-indications :**• Absolues :**

-Incidents d'hypersensibilité à l'un de composants (en particulier hypersensibilité aux sulfamides) ;

Atteinte sévère de parenchyme hépatique ;

Méthotrexate : interaction médicamenteuse ;

Pendant l'allaitement si le nouveau-né a moins d'un mois.

• Relatives :

-Phénytoïne, hyperkaliémiants : interactions médicamenteuses (**Dictionnaire CRD, 2005**).

I.3.4. Posologie et mode d'administration :

La posologie habituelle est de 2 comprimés toutes les 12 heures. Elle peut atteindre 6 comprimés par jours en 2 ou 3 prises en cas d'infections sévères. L'administration se fera de préférence au cours des repas (**Dictionnaire CRD, 2005**).

I.3.5.. Pharmacodynamique :

Le sulfaméthoxazole et le triméthoprim agissent en synergie.

- **Spectre d'activité antibactérienne :**

Les concentrations critiques séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et des souches résistantes : sulfaméthoxazole – triméthoprim : sensible ≤ 2 mg /l et résistant > 8 mg/ l. L'association sulfaméthoxazole –triméthoprim présente un effet fortement synergique vis-à-vis de la plupart des bactéries, y compris les souches résistantes à l'un des deux produits. Ceci explique l'activité de l'association sur les Nocardia et les Stenotrophomonas mais aussi sur Escherichia coli ayant une résistance acquise aux sulfamides. Cette synergie est maximale pour les Enterobactéries et Staphylocoques .En revanche, vis-à-vis des bactéries naturellement résistantes au triméthoprim (Nocardia , Stenotrophomonas , Neisseria) (**Dictionnaire CRD , 2005**) .

Le spectre d'activité antimicrobienne de PRIMAZOL est résumé dans le tableau V.

Tableau V : Spectre d'activité antibactérienne.

Bactéries	Espèces sensibles	Espèces résistantes
Aérobies à Gram +	Corynébactéries, Entérocoques, Listéria Staphylococcus aureus Staphylococcus à coagulase négative Stréptococcus pneumoniae	Mycobactérium avium intracellulaire Mycobactérium tuberculosis Pseudomonas.
Aérobies à Gram -	Citrobacter freundii ,Enterobacter Escherichia coli Klebsiella , Morganella, Pasteurella, Salmonella , Shigella Proteus Haemophilus	Pas d'espèce
Anaérobies	Peptostreptococcus	Pas d'espèce
Autres	Mycobacterium (sauf Tuberculosis et Mycobacterium avium intracellulaire) Borrelia , Pneumocystis carinii Spirochetes Toxoplasma Isospora belli	Pas d'espèce

(**Dictionnaire CRD, 2005**).

I.3.6. Pharmacocinétique :**❖ Absorption :**

Le PRIMAZOL est administrés par voie orale, le sulfaméthoxazole et le triméthoprim sont rapidement absorbés à 90%. Les concentrations plasmatiques sont atteintes en 2 à 4 heures (Vidal, 2013).

❖ Distribution :

Après administration orale d'une seule dose de l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole, les concentrations plasmatiques maximales sont comprises entre 40 et 60 ug/ml pour le sulfaméthoxazole et entre 1 et 2 ug/ml pour triméthoprim.

La demi- vie du sulfaméthoxazole est de 9 à 11 heures celle du triméthoprim de 10 à 12 heures. Ce médicament diffuse rapidement dans les tissus et dans les sécrétions : le liquide céphalorachidien, l'oreille moyenne, les amygdales et la salive, les poumons et les sécrétions bronchiques, la prostate et le liquide séminal, les sécrétions vaginales et l'os.

La liaison aux protéines plasmatiques est de 66% pour le sulfaméthoxazole et de 45% pour le triméthoprim (Vidal, 2013).

❖ Métabolisme :

Dans le sang et l'urine, on trouve le sulfaméthoxazole sous sa forme initiale et sous forme métabolisée (environ 85%) ; les métabolites seraient bactériologiquement inactifs. On retrouve le triméthoprim principalement sous forme non métabolisée ainsi que métabolisée (25% environ) ; certains métabolites seraient bactériologiquement actifs (Vidal, 2013).

❖ Excrétion :

L'élimination de ce médicament est essentiellement urinaire (80 % de la dose administrée en 72 heures) sous forme métabolisée et sous forme inchangée (20 % pour le sulfaméthoxazole et 50 % pour le triméthoprim). Une partie est excrétée par la bile où les concentrations sont proches des concentration plasmatiques mais , étant donné la reabsorption intestinale , seule une faible fraction de triméthoprim (4 %) est éliminée dans les fèces .

Le sulfaméthoxazole et le triméthoprim sont hémodialysables (Vidal, 2013).

I. 4. Contrôle pharmaceutique :

I.4.1 .Définition de la qualité :

On peut se référer à la définition donnée par **ISO** et **AFNOR** sous le codex NFX50-109 définissant la qualité comme suit :

« Ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites d'un client ».

L'appréciation par l'utilisateur et son jugement est la base de la relation client/fournisseur, qui détermine ce que l'on appelle la qualité (**Feinberg et al., 2002**).

I.4.2. Assurance de la qualité :

L'assurance de la qualité est obtenue par la mise en œuvre d'un ensemble approprié de dispositions préétablies et systématiques, destinées à donner confiance en l'obtention de la qualité requise (**AFNOR, 1987**).

La qualité d'un médicament ne peut être assurée que par l'application des bonnes pratiques de fabrication (BPF) qui font partie du système d'assurance qualité, pour garantir que les produits sont régulièrement fabriqués et contrôlés selon les normes applicables à leur usage, prévues et exigées par les autorités de réglementation pharmaceutique (**Allo et al., 2005**).

I.4.3. Contrôle de la qualité :

I.4.3.1. Définition :

Le contrôle de la qualité consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et à comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies (**Le Hir, 2001**).

Le contrôle de qualité concerne les matières premières, les articles de conditionnement ainsi que le matériel, qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées ont réellement été effectuées et que les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation ou la vente sans que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante (**Le Hir, 2009**).

I.4.3.2. Les niveaux de contrôle dans industrie pharmaceutique :

Le contrôle se fait à trois niveaux :

➤ Avant toute opération de production, il faut s'assurer que :

Les matières premières (principes Actifs, les excipients et les articles de conditionnements) sont soumises à un contrôle physico-chimique et microbiologique pour voir si elles sont conformes aux normes de qualité imposée par la pharmacopée, le matériel et les locaux sont aussi contrôlés, en vue de s'assurer de leur propreté et du bon fonctionnement des appareils mis en jeu durant la fabrication (**Montiel, 1996**).

➤ Durant la fabrication :

Il y'a lieu de vérifier que toutes les opérations sont effectuées correctement, pour la fabrication d'un produit de bonne qualité (**Juez , 2001**).

➤ Le produit fini :

Il est soumis à un contrôle physico-chimique, microbiologique et toxicologique afin d'approuver sa qualité (**Bourgeois et al., 2001**)

I.4.3.3. Différents types de contrôles de qualité :

❖ Contrôle physico-chimique :

C'est essentiellement l'étude des propriétés physicochimiques du principe actif, des excipients et des articles de conditionnement (**Allo et al ., 2005**) .

❖ Contrôle microbiologique:

L'objectif des analyses microbiologiques est de vérifier l'absence de tout microorganisme vivant dans les produits obligatoirement stériles (test de stérilité) ou de tolérer un taux limite de contamination avec absence d'espèces pathogènes dans les produits non obligatoirement stériles (test de pureté) (**Bourin et Jalliet , 1999**).

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et une bonne qualité marchande du produit fabriqué .De plus, les contrôles doivent permettre de minimiser les pertes dues à des mauvaises conditions de fabrication (**Beerns et Luquet, 1998**).

❖ Contrôle toxicologique:

Le but de ce contrôle est de mettre en évidence la tolérance et l'altération fonctionnelle anatomo-pathologique consécutive à l'administration du principe actif, les organes cibles sur lesquels s'exerce la toxicité, ils sont soumis à des essais de toxicité chez l'animal (**Le Hir, 2001**).

4.3.4. Autorisation de mise sur le marché :

L'autorisation de mise sur le marché (AMM) est l'accord donné à un médicament pour être commercialisé, par l'autorité compétente des pays concernés. Si le médicament présente un risque sur la santé publique, il doit être retiré par le laboratoire ou par une demande de sécurité, et l'AMM sera annulée (**Juillet et al., 2012**).

I.4.4. Le procédé de fabrication de PRIMAZOL 400mg/80mg :

Les différentes étapes de fabrication de PRIMAZOL 400mg/80mg sont résumé dans l'organigramme VI.

Tableau VI : Procédé de fabrication de PRIMAZOL 400mg/80mg au niveau d'unité BIOTIC.

Chronologie des opérations	Etapes	Contrôle en cours
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Tamisage et pesée</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	1	Conformité
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Mélange des deux principes actifs</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	2	Temps de mélange (10 minutes)
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Préparation de la solution de mouillage</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	3	Absence de grumeaux
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Mouillage</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	4	Absence de grumeaux
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Granulation</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	5	Aspect de la masse granuleuse
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Séchage</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	6	Température (50 °C), Taux d'humidité
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Calibrage</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	7	Aspect et poids du grain
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Lubrification</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	8	Temps de mélange
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Compression</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	9	Poids moyen, dureté, friabilité, délitement uniformité de masse.
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Conditionnement</div>	10	Conformité, Etanchéité

(Dossier pharmaceutiques de SAIDAL, 2010).

II– Matériel et méthodes :

Notre stage a été réalisé au sein du laboratoire de contrôle de qualité au niveau de l'unité BIOTIC de Gué de Constantine (GDC) de groupe SAIDAL pendant une période de trois mois de Mars à Mai.

II.1. Matériel :**II.1.1. Matériel non biologique :** (Voir annexe 01).➤ **Matières utilisées :**

- Matières premières : Principe actif : Sulfaméthoxazole 400mg et Triméthoprim 80mg.
- Produit fini : comprimé de PRIMAZOL 400mg /80mg.

II.1.2 .Matériel biologique : (Voir annexe 02).

- 5 souris albinos de sexe male dont le poids varie de 17 à 24g provenant de l'élevage du GDC SAIDAL.

II.2. Méthodes :**II.2 .1 .Echantillonnage :**

Il doit être représentatif, effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuse, pour éviter toute source de contamination ; on mentionne : la date du prélèvement, la quantité prélevée, le numéro de lot et l'identification du produit.

Tableau VII : date, numéro, quantité de prélèvement et contrôles effectués.

Produits prélevés	Date de prélèvement	N° de lot	Quantité prélevée	Contrôles effectués
Matières premières : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sulfaméthoxazole 400mg ▪ Sulfaméthoxazole 400mg ▪ Triméthoprim 80mg ▪ Triméthoprim 80mg 	04/03/2017 16/03/2017 04/03/2017 16/03/2017	20640611 23700714 A-20111607041 A-20111109040	500mg 100mg 500mg 100mg	Physico-chimique
Produit fini : PRIMAZOL400mg /80mg	25/04/2017	80	10 blistères	Physico-chimique, microbiologique et toxicologique

II.2.2. Contrôle physico-chimique :

II.2.2.1. Matières premières :

A/ Principe actif : Sulfaméthoxazole 400mg ou 4-Amino-N-(5-methylisoxazol-3-yl) benzenesulfonamide :

Les protocoles expérimentaux sont réalisés selon la **pharmacopée européenne (2008)**.

A/1. Caractères :

Ces essais consistent à déterminer la forme, l'aspect, la couleur ainsi que la solubilité de la substance à examiner dans les différents solvants préconisés (**Wehrle, 2007**).

➤ **Aspect :**

❖ **Mode opératoire :**

Prendre une petite quantité de la poudre de Sulfaméthoxazole 400mg et la mettre sur une feuille blanche, puis observer son aspect à l'œil nu.

❖ **Lecture :**

Le Sulfaméthoxazole est une poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche.

➤ **Solubilité :**

➤ Introduire une quantité de 1g de la poudre de Sulfaméthoxazole dans Cinq tubes à essais, contenant chacun 2ml d'eau, 2ml de l'acétone, 2ml éthanol à 96%, 2ml d'hydroxyde de sodium diluée et 2ml de l'acide chloridrique dilué.

➤ Agiter énergiquement à l'aide d'un vortex et observer ensuite le degré de solubilité de chaque solvant à l'œil nu.

❖ **Lecture :**

La poudre est pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, assez soluble dans l'éthanol, se dissout dans d'hydroxyde de sodium diluée et dans l'acide chloridrique dilué.

A/ 2. Identification par Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (IR):

Il consiste à placer une petite quantité de la poudre d'échantillon dans le spectrophotomètre PERK IN ELMER qui donne un spectre caractéristique.

❖ **Mode opératoire :**

➤ Nettoyer la plaque de l'accessoire UATR par acétone.

➤ Placer la poudre à analyser dans la plaque.

➤ Pousser l'accessoire UATR fermement.

➤ Lancer l'analyse par le système informatique.

➤ Comparer le spectre obtenu avec le spectre de référence.

❖ **Expression des résultats :**

Comparaison du spectre obtenu avec le spectre de référence(SCR).

A/3. **Essais limites :**➤ **Acidité :**❖ **Principe :**

L'acidité totale ou *TAF* (titre en acide fort) se mesurent par titrage avec une solution d'hydroxyde de sodium en présence d'indicateurs colorés bleu de bromothymol (**Rodier et al., 2005**).

❖ **Mode opératoire :**

- introduire 1.25g de Sulfaméthoxazole, dans un Erlenmeyer.
- Ajouter 25ml d'eau et chauffer à 70°C pendant 15min.
- Refroidir dans de l'eau glacée pendant 15min et filtrer.
- Ajouter à 20ml de filtrat 0.1ml de l'indicateur coloré (bleu de bromothymol).
- Ajouter 0.05 à 0.3ml d'hydroxyde de sodium 0.1M jusqu'au virage de couleur bleu vers le jaune.

❖ **Lecture :**

Pas de virage de couleur.

➤ **Perte à la dessiccation :**❖ **Principe :**

La perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage.

❖ **Mode opératoire :**

- Placer dans d'une capsule en verre, une quantité égale à 1g de Sulfaméthoxazole, après la tare.
- Dessécher la substance se fait pendant une durée de 2heures dans l'étuve à 105°C.

❖ **Expression de résultat :**

Une fois le temps écoulé repeser la capsule puis calculer la perte de masse à l'aide de la formule suivante :

$$Pd \% = \frac{(Pv + Pe) - Pf}{Pe} \times 100$$

Avec :

Pd : perte à la dessiccation (%).

PV : poids de capsule vide (g).

Pe : prise d'essai (g).

Pf: poids de capsule final (g).

Norme : la perte à la dessiccation est au maximum de 0.5 %.

➤ **Cendres sulfuriques :**

❖ **Mode opératoire :**

- Chauffer un creuset de platine dans un four à 600°C pendant 30min.
- Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser.
- Introduire 1g de Sulfaméthoxazole et humecter avec 1ml de l'acide sulfurique.
- Réchauffer le creuset jusqu'à carbonisation complète de l'échantillon.
- Humecter le résidu avec l'acide sulfurique, après refroidissement,
- Calciner dans un four à 600°C pendant 4H.
- Laisser refroidir le creuset dans un dessiccateur, peser à nouveau et calculer la masse du résidu.

❖ **Expression de résultat :**

Le calcul de cendres sulfuriques se fait à l'aide de la formule suivante :

$$Cs \% = \frac{(Pf - Pv)}{Pe} \times 100$$

Avec :

Cs : cendres sulfuriques (%).

Pf : poids de creuset final (g).

PV : poids de creuset vide (g).

Pe : prise d'essai (g).

Norme : les cendres sulfuriques est au maximum de 0.5 %.

➤ **Recherche des métaux lourds :**

❖ **Principe :**

Les métaux lourds sont des impuretés minérales toxiques pour l'organisme humain. Le principe de la recherche des métaux lourds se base sur l'utilisation de réactif Thio acétamide R comme alternative et la comparaison de l'échantillon à examiner par rapport à un témoin renfermant la quantité maximale de plomb et par rapport à une solution à blanc (**Pharmacopée Européenne, 2008**).

❖ **Mode opératoire :**

✓ **Préparation de solution mère :**

- Introduire 1g Sulfaméthoxazole , ajouter 0.5g d'oxyde de magnésium, dans un creuset en verre.
- Calciner jusqu'à obtention d'une masse blanche à blanc- gris.
- Chauffer le creuset dans un four à 800°C pendant 1h.

- Répondre le résidu à 2prises avec 5ml d'un mélange à volumes égaux d'acide chlorhydrique et de l'eau.
- Ajouter 0.1ml de solution de phénolphaléine puis de l'ammoniaque concentré jusqu'à coloration rose.
- Refroidir le creuset puis ajouter de l'acide acétique glacial jusqu'à décoloration, ajouter 0.5ml en excès.
- Filtrer et laver le filtrat, compléter le volume à 20ml avec de l'eau.
- ✓ **Préparation de solution à analyser :**
 - Introduire 12ml de solution mère dans un tube à essai.
 - Ajouter 2ml d'une solution tampon à pH 3.5.
 - Ajouter 1.2ml de réactif au Thio acétamide R.
- ✓ **Préparation de témoin :**
 - Dans un tube à essai, préparer le témoin avec 10ml de solution mère et ajouter 2ml de la solution de 10 ppm de plomb (Pb) R.
 - Ajouter 2ml de solution tampon à pH 3.5 et 1.2ml de réactif au Thio acétamide.
- ✓ **Préparation de solution à blanc :**
 - Introduire 10ml de l'eau et 2ml de la solution mère, dans un tube à essai.
 - Ajouter 2ml de solution tampon à Ph 3.5 et 1.2ml de réactif au Thio acétamide.
 - Mélanger immédiatement pendant 2minutes puis examiner les trois solutions.
- ❖ **Lecture :**

L'essai n'est valable que si la solution témoin montre légère coloration brune comparée à la solution à blanc, la substance à examiner est conforme à l'essai si la coloration brune éventuelle de la solution à examiner n'est plus intense que celle de la solution témoin.

➤ **Dosage**

❖ **Principe :**

Les méthodes volumétriques constituent un groupe important de procédures quantitatives efficaces basées sur la mesure de volume d'une solution de concentration connue qui est nécessaire pour que la réaction avec l'analyte soit pratiquement complète (Vogel, 2007).

❖ **Mode opératoire :**

- Introduire 200mg de Sulfaméthoxazole, ajouter 20ml de diméthylformamide, dans une Erlenmeyer.
- Titrer par le méthylate de sodium 0.1N en présence de bleu de thymol à 0.3%.
- Le point d'équivalent correspond à la première coloration bleue.

1ml de méthylate de sodium 0.1N correspond à 25.33mg de Sulfaméthoxazole.

❖ **Expression des résultats :**

Une fois l'apparition de la couleur bleu est persistante, calculer le dosage selon l'équation suivante :

Avec:

$$Dg\% = \frac{V \times CT \times N}{Pe \times (100 - Pd)}$$

CT : Correspondance (25.33mg).

Pd : perte à la dessiccation.

Pe : Prise d'essai.

Dg : Dosage (%).

V: Volume de méthylate de sodium.

Norme : $99\% \leq Dg \leq 101\%$

B/ Principe actif : Triméthoprime ou 5-(3, 4, 5, Trimethoxybenzyl) pyrimidine-2-4-diamine.

Les méthodes de contrôle sont celles préconisées par la Pharmacopée Européenne (2008) .

B/1. Caractères :

Ces essais consistent à déterminer la forme, l'aspect, la couleur ainsi que la solubilité de la substance à examiner dans les différents solvants préconisés (Wehrle, 2007).

➤ **Aspect :**

❖ **Mode opératoire :**

➤ Prendre une petite quantité de la poudre de Triméthoprime 80mg et la mettre sur une feuille blanche, puis observer son aspect à l'œil nu.

❖ **Lecture :**

Le Triméthoprime est une poudre cristalline blanche ou blanc-jaune.

➤ **Solubilité :**

➤ Introduire une quantité de 1g de la poudre de Triméthoprime dans deux tubes à essais, contenant chacun 2ml d'eau, 2ml éthanol à96%. Agiter énergiquement à l'aide d'un vortex et observer ensuite le degré de solubilité de chaque solvant à l'œil nu.

❖ **Lecture :**

La poudre est pratiquement insoluble dans l'eau, assez soluble dans l'éthanol.

B/2. Identification du Triméthoprime par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge IR :

Il consiste à placer une petite quantité de la poudre d'échantillon dans le spectrophotomètre PERK IN ELMER qui donne un spectre caractéristique.

❖ **Mode opératoire :**

- Nettoyer la plaque de l'accessoire UATR par acétone.
- Placer la poudre à analyser dans la plaque.
- Pousser l'accessoire UATR fermement.
- Lancer l'analyse par le système informatique.
- Comparer le spectre obtenu avec le spectre de référence.

❖ **Expression des résultats :**

Comparaison du spectre obtenu avec le spectre de référence.

B/3. Essais limites :➤ **Perte à la dessiccation :**❖ **Principe :**

La perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage.

❖ **Mode opératoire :**

- Placer une quantité égale à 1g de Triméthoprime dans une capsule en verre, après la tare.
- Dessécher la substance dans l'étuve à 105° C pendant 2heures.

❖ **Expression de résultat :**

Une fois le temps écoulé repeser la capsule puis calculer la perte de masse à l'aide de la formule suivante :

$$Pd \% = \frac{(Pv + Pe) - Pf}{Pe} \times 100$$

Avec :

Pd : perte à la dessiccation (%).

PV : poids de capsule vide (g).

Pe : prise d'essai (g).

Pf : poids de capsule final (g).

Norme : la perte à la dessiccation est au maximum de 1%.

➤ **Cendres sulfuriques :**❖ **Principe :**

Ce test permet de mettre en évidence la présence d'impuretés minérales, les cendres peuvent être obtenues par simple calcination au four à moufle jusqu'à poids constant.

❖ **Mode opératoire :**

- Chauffer un creuset de platine dans un four à 600°C pendant 30min.
- Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser.
- Introduire 1g de Triméthoprime et humecter avec 1ml de l'acide sulfurique.

- Réchauffer le creuset jusqu'à carbonisation complète de l'échantillon.
- Humecter le résidu avec l'acide sulfurique, après refroidissement.
- Calciner dans un four à 600°C pendant 4H.
- Laisser refroidir le creuset dans un dessiccateur, peser à nouveau et calculer la masse du résidu.

❖ **Expression de résultat :**

Le calcul de cendres sulfuriques se fait à l'aide de la formule suivante :

$$Cs \% = \frac{(Pf - Pv)}{Pe} \times 100$$

Avec :

Cs : cendres sulfuriques (%).

Pf: poids de creuset final (g).

PV : poids de creuset vide (g).

Pe : prise d'essai (g).

Norme : les cendres sulfuriques est au maximum de 0.1 %.

➤ **Recherche des métaux lourds :**

❖ **Mode opératoire :**

✓ **Préparation de solution mère :**

- Introduire 1g Triméthoprime, dans un creuset en verre, ajouter 4ml de sulfate de magnésium à 250g /l dans l'acide sulfurique dilué.
- Calciner jusqu'à obtention d'une masse blanche à blanc- gris.
- Chauffer le creuset dans un four à 800°C pendant 2h.
- Laisser refroidir puis humecter le résidu avec 1ml d'acide sulfurique dilué , évaporer et calciner à nouveau.
- Répondre le résidu à 2 prises avec 5ml de l'acide chlorhydrique.
- Ajouter 0.1ml de solution de phénolphtaléine puis de l'ammoniaque concentré jusqu'à coloration rose.
- Refroidir le creuset puis ajouter de l'acide acétique glacial jusqu'à décoloration, ajouter 0.5ml en excès.
- Filtrer et laver le filtrat, compléter le volume à 20ml avec de l'eau.

✓ **Préparation de solution à analyser :**

- Introduire 12ml de solution mère dans un tube à essai.
- Ajouter 2ml d'une solution tampon à pH 3.5.
- Ajouter 1.2ml de réactif au Thio acétamide R.

✓ **Préparation de témoin :**

- Préparer le témoin avec 10ml de solution mère, dans un tube à essai et ajouter 2ml de la solution de 10 ppm de plomb (Pb) R.
- Ajouter 2ml de solution tampon à pH 3.5 et 1.2ml de réactif au Thio acétamide.

✓ **Préparation de solution à blanc :**

- Introduire 10ml de l'eau et 2ml de la solution mère, dans un tube à essai.
- Ajouter 2ml de solution tampon à Ph 3.5 et 1.2ml de réactif au Thio acétamide.
- Mélanger immédiatement pendant 2minutes puis examiner les trois solutions.

❖ **Lecture :**

La substance à examiner est conforme à l'essai si la coloration brune éventuelle de la solution à examiner n'est plus intense que celle de la solution témoin.

➤ **Dosage**❖ **Principe :**

Les méthodes volumétriques constituent un groupe important de procédures quantitatives efficaces basées sur la mesure de volume d'une solution de concentration connue qui est nécessaire pour que la réaction avec l'analyte soit pratiquement complète (Vogel, 2007).

❖ **Mode opératoire :**

- Introduire 0.250mg de Triméthoprime, dans une Erlenmeyer, ajouter 50ml de l'acide acétique anhydre.
- Titrer par l'acide perchlorique 0.1N en présence l'indicateur violet de cristal.
- Le point d'équivalent correspond à la première coloration bleue.

1ml de l'acide perchlorique 0.1N correspond à 29.03mg de Triméthoprime.

❖ **Expression des résultats :**

Une fois l'apparition de la couleur bleu est persistante, calculer le dosage selon l'équation suivante :

$$Dg\% = \frac{V \times CT \times N}{Pe \times (100 - Pd)}$$

Avec:

CT : Correspondance (29.03mg).

Pd : perte à la dessiccation.

Pe : Prise d'essai.

Dg : Dosage (%).

V: Volume de l'acide perchlorique .

Norme : 98.5% ≤ Dg ≤ 101%.

II.2.2.2. Contrôle du produit semi-fini (le grain) :

Le contrôle de grain est basé sur le dosage selon la pharmacopée Européenne (2008).

➤ **Dosage par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :**

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. (Colomb, 2010).

❖ **Principe**

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

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (Colomb, 2010).

❖ **Mode opératoire :**

✓ **Préparation de solution témoin :**

-Dissolver 81.20mg de Sulfamethoxazole et 17.60mg de Triméthoprime dans une fiole de 50ml et compléter le volume avec le méthanol

-Mettre la solution dans le bain Ultra-son à 25°C pendant 15min et filtrer.

-Faire une dilution de $1/10^{\text{iem}}$ avec la phase mobile.

✓ **Préparation de solution à examiné :**

-Dissolver 100mg de poudre de grain dans une fiole de 50ml et compléter le volume avec le méthanol.

-Mettre la solution dans le bain Ultra-son à 25°C pendant 15min et filtrer.

-Faire une dilution de $1/10^{\text{iem}}$ avec la phase mobile.

✓ **Préparation de phase mobile à un débit de 2ml/min :**

-Mélanger 700ml d'eau, 200ml d'acetonitrile et 1ml de Triéthylamine.

-Ajuster le PH à 5.9 avec l'acide acétique à 1% ou Na OH à 0.2N et compléter le volume à 1000ml avec de l'eau distillé puis filtrer et dé gazéifier.

❖ **Conditions chromatographique :**

On peut réaliser le dosage à l'aide de :

-Une colonne d'une longueur de 25cm et d'un diamètre intérieur de 4.6 mm remplie d'un gel de silice octadécylsilylé (5µm).

-Une phase mobile à un débit de 2ml/min.

-Un détecteur : un spectrophotomètre UV réglé à 254 nm.

- Injecter 20µl de solution à examiner et 20µl de solution témoin sous les conditions suivante :

Atténuation 1=128.

Atténuation 2= 32.

CS = 0.25mm /sec

PT = 200.

❖ **Expression de résultat :**

Pour calcule la teneur en sulfamethoxazole et Triméthoprimé on a recours à la formule suivante :

$$Dg\% = \frac{Se \times Pt \times Pm}{St \times Pe \times Dgt} \times Te$$

Avec :

Se : Surface essai.

St : Surface témoin.

Pt : Prise d'essai de témoin.

Pe : prise d'essai (g).

Pt : Prise d'essai de témoin.

Pe : Prise d'essai de l'essai.

Pm : poids moyen.

Dgt : dosage théorique.

Te : le titre.

- **Limites d'acceptabilité : $92.5\% \leq Dg \leq 107.5\%$**

II.2.2. 3. Contrôle du produit fini :

Le contrôle de produit fini « PRIMAZOL 400mg/80mg » est basé sur l'aspect, le poids moyen, uniformité de masse, friabilité, temps de délitement et le dosage selon la pharmacopée Européenne (2008).

➤ **Caractères :**

Aspect et couleur : est déterminés par simple examen visuel, PRIMAZOL 400mg/80mg est comprimé blanc, semi bombé et lisse.

➤ **Poids moyenne :**

Le poids moyen correspond à la moyenne des pesés effectuées sur 10 comprimés.

$$PM = \frac{P_1 + P_2 + \dots + P_{10}}{N}$$

- PM** : Poids moyen.
- P₁** : Poids du premier comprimé.
- P₂** : Poids du deuxième comprimé.
- P₁₀** : Poids du 10^{ème} comprimé.
- N** : Nombre des comprimés pesés.

- **Limites d'acceptabilité : 484.5 mg ≤ PM ≤ 535.5 mg.**

➤ **Uniformité de masse :**

L'uniformité de masse s'effectue sur 20 comprimés, la masse individuelle de 2 comprimés ou plus de 20 unités peut s'écarter de la masse moyenne de 5%, mais aucune unité ne peut s'écarter de plus de 10%.

❖ **Principe :**

Assurer que la répartition de chaque dose unitaire dans un échantillon d'une forme pharmaceutique est uniforme et conforme à la limite d'acceptation.

❖ **Mode opératoire :**

- Peser individuellement 20 unités prélevées au hasard.
- Déterminer la masse moyenne.

❖ **Expression de résultat :**

- ❖ La masse moyenne correspond à la moyenne des pesés effectuées sur 20 comprimés.

$$MM = \frac{P_1 + P_2 + \dots + P_{20}}{N}$$

- MM** : Masse moyen.
- P₁** : Poids du premier comprimé.
- P₂** : Poids du deuxième comprimé.
- P₂₀** : Poids du 20^{ème} comprimé.
- N** : Nombre des comprimés pesés.

Les résultats du test d'uniformité de masse sont exprimés en pourcentage selon les deux formules :

$$T_1 = \frac{MM \times 5}{100}, T_2 = \frac{MM \times 10}{100}$$

$$MM \pm T_1, MM \pm T_2$$

- MM** : Masse moyenne.
- T₁, T₂** : Pourcentage de l'uniformité de masse .
- 5%, 10%** : Ecartement de MM.

- **Limites d'acceptabilité : 480mg/cp à 534mg/cp.**

➤ **Friabilité :**

Cet essai est destiné à déterminer, dans des conditions définies, la friabilité des comprimés, c'est à - dire le phénomène par lequel la surface des comprimés est endommagée ou présente des signes d'abrasion ou de rupture sous l'effet de chocs mécaniques ou d'une attrition.

Cet essai peut estimer la résistance des comprimés lors des opérations de conditionnement, d'éventuel enrobage et pendant le transport (**LEVACHER, 2006**) .

Ce test est effectué grâce à un friabilimètre ; constitué d'un tambour rotatif à chaque rotation 25 tours /minute.

❖ **Principe :**

La friabilité est basé sur la vérification de la perte de masse d'un comprimé après rotation dans un tambour à la vitesse de 25tours/mn (**LEVACHER, 2006**).

❖ **Mode opératoire :**

-Peser un nombre de comprimés entiers correspond à une masse de 6.5g puis les introduire à l'intérieur du tambour

-Régler l'appareil à 100 tours pendant 04 minutes. Mettre l'appareil en marche.

-Récupérer les comprimés, éliminer les poussières et les repeser.

❖ **Expression de résultat :**

Le résultat est exprimé en termes de perte de masse et calculé en pourcentage de la masse initiale.

$$F = [(P_i - P_f) \times 100] / P_i$$

F : Friabilité

P_i : Poids initial des comprimés (g).

P_f : Poids final des comprimés (g), (Non fêlés, non fissurés ou non cassés).

L'essai est effectué sans répétition. Toutefois, si les résultats sont ambigus ou si la perte de masse est supérieure à 1%, répéter l'essai à 2 reprises et calculer la moyenne des 3 résultats.

***Critères d'acceptabilité : F ≤ 1%.**

➤ **Temps de délitement :**

Cet essai est destiné à déterminer l'aptitude des comprimés à se désagréger dans un temps prescrit en milieu liquide et dans des conditions expérimentales bien définies.

La désintégration n'implique pas une dissolution complète de l'unité soumise à l'essai ni même de son composant actif. Le test s'effectue à 37°C sur six comprimés comptant un comprimé par tube.

❖ **Mode opératoire :**

- Placer six comprimés dans six tube de l'appareille.
- Placer un disque dans chaque tube.
- Vérifier la température 37°C.
- Ajuster le volume du liquide d'immersion (eau distillée).
- Les comprimés sont soumis à un mouvement d'agitation régulier.
- Remonter le porte - tubes hors du liquide, et examiner les comprimés, à la fin du temps spécifié,
- **Limites d'acceptabilité :** les six comprimés sont désagrégés à un temps inférieure à 15 minutes.

➤ **Dosage par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :**

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. (Colomb, 2010).

❖ **Principe :**

Le principe est le même que cèle appliquer pour le dosage du grain.

❖ **Mode opératoire :**

✓ **Préparation de solution témoin :**

- Dissolver 81.20mg de Sulfamethoxazole et 17.60mg de Triméthoprime dans une fiole de 50ml puis compléter le volume avec le méthanol et filtrer.
- Faire une dilution de $1/10^{\text{iem}}$ avec la phase mobile.

✓ **Préparation de solution à examiné :**

- Dissolver 100mg de poudre de comprimé dans une fiole de 50ml puis compléter le volume avec le méthanol et filtrer.
- Faire une dilution de $1/10^{\text{iem}}$ avec la phase mobile.

✓ **Préparation de phase mobile à un débit de 2ml/min :**

- Mélanger 700ml d'eau ,200ml d'acetonitrile et 1ml de Triéthylamine.
- Ajuster le PH à 5.9 avec l'acide acétique à 1% ou Na OH à 0.2N et compléter le volume à 1000ml avec de l'eau distillé puis filtrer et dé gazéifier.

❖ **Conditions chromatographique :**

On peut réaliser le dosage à l'aide de :

-Une colonne d'une longueur de 25cm et d'un diamètre intérieur de 4.6 mm remplie d'un gel de silice appropriée (5µm ODS).

-Une phase mobile à un débit de 2ml/min.

-Un détecteur : un spectrophotomètre UV réglé à 254 nm.

- Injecter 20µl de solution à examiner et 20µl de solution témoin sous les conditions suivantes :

Atténuation 1=128.

Atténuation 2= 32.

CS = 0.25mm /sec.

PT = 200.

❖ **Expression de résultat :**

Pour calculer la teneur en sulfaméthoxazole et Triméthoprime on a recours à la formule suivante :

$$Dg\% = \frac{Se \times Pt \times Pm}{St \times Pe \times Dgt} \times Te$$

Se : Surface essai.

St : Surface témoin.

Pt : Prise d'essai de témoin.

Pe : Prise d'essai de l'essai.

Pm : poids moyen.

Dgt : dosage théorique.

Te : le titre.

***Limites d'acceptabilité : 92.5% ≤ D ≤ 107.5%**

➤ **Test de dissolution (Chromatographie liquide à haute performance) :**

Cet essai est destiné à déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs des formes solides (telles que les comprimés, les capsules) en utilisant un appareil déterminé et dans des conditions opératoires bien définies.

On mesure le pourcentage du principe actif dissout en fonction du temps, dans un liquide maintenu à 37°C.

❖ Principe :

L'essai de dissolution est destiné au contrôle de la qualité des formes pharmaceutiques solides. Il sert à démontrer la reproductibilité du procédé de production et la conformité du produit fini avec les lots précédents.

Leur principe consiste à déterminer la plus grande aptitude des formes galéniques à laisser passer en solution, dans un milieu déterminé, le ou les principes actifs qu'elles contiennent. Le passage en solution est apprécié par dosage du principe actif dans les échantillons prélevés dans le milieu de dissolution à intervalle de temps différents (WEHERLÉ, 2007)

❖ Mode opératoire :**➤ Conditions de dissolution :**

- Appareil : dissolu-test ERWEKA à 6 vases.
- Milieu de dissolution : solution d'acide chlorhydrique 0.1N.
- Vitesse d'agitation : 75 trs /mm
- Volume de milieu : 900ml.
- Temps de dissolution : 60min.
- Température : $(37 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$.
- Système : palette.

➤ Préparation de solution témoin :

- Dissolve 81.20mg de Sulfamethoxazole et 17.60mg de Triméthoprime dans une fiole contenant 50ml de méthanol et filtrer.
- Faire une dilution de $1/10^{\text{iem}}$ avec la phase mobile.

➤ Préparation de solution essaie :

- Peser et placer un Cp dans chaque vase de dissolu-test.
- Procéder à la dissolution pendant 1h.
- Prélever 20ml de chaque vase et filtrer.
- Injecter 20 μl de chaque filtrat.

➤ Préparation de phase mobile à un débit de 2ml/min :

- Mélanger 700ml d'eau ,200ml d'acetonitrile et 1ml de Triéthylamine.
- Ajuster le PH à 5.9 avec l'acide acétique à 1% ou Na OH à 0,2N et compléter le volume à 1000ml avec de l'eau distillé puis filtrer et dégazeifier.

➔ **Conditions chromatographiques :**

On peut réaliser le dosage à l'aide de :

- Une colonne en acier inoxydable d'une longueur de 25cm et d'un diamètre intérieur de 4.6 mm.
- Une phase mobile à un débit de 2ml/min.
- Un détecteur : un spectrophotomètre UV réglé à 254 nm.
- Volume d'injection : 20µl.

❖ **Expression de résultat :**

Pour calculer la teneur en sulfaméthoxazole et Triméthoprime on a recours aux formules suivantes :

$$X = \frac{\text{Se Sulfaméthoxazole de l'essai}}{\text{St Sulfaméthoxazol de témoin}} \times \frac{\text{Pet}}{50} \times \frac{1}{10} \times \frac{900}{\text{Pec}} \times \text{Pm}$$

$$Y = \frac{\text{Se Triméthoprime de l'essai}}{\text{St Triméthoprime de témoin}} \times \frac{\text{Pet}}{50} \times \frac{1}{10} \times \frac{900}{\text{Pec}} \times \text{Pm}$$

$$\text{TD}\% = \frac{X + Y}{480} \times 100$$

Avec :

TD : Taux de dissolution.

Se : surface de l'essai.

St : surface de témoin.

Pet: prise d'essai de témoin.

Pec: poids d'un comprimé.

Pm: Poids moyen.

Normes : TD % ≥ 70%.

II.2.3. Contrôle microbiologique :

II.2.3.1. Contrôle microbiologique de produit fini PRIMAZOL 400mg/80mg :

Dans notre travail, nous avons effectués un contrôle de pureté microbienne des comprimés selon la pharmacopée Européenne (2011).

L'analyse doit réaliser ce contrôle par :

- Le dénombrement des germes aérobies viables totaux :
 - ✓ *levures, moisissures* et les *bactéries*.
- La recherche des micro-organismes spécifiques :
 - ✓ *Entérobactéries*.
 - La recherche des germes pathogènes :
 - ✓ *Staphylococcus aureus*.
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa*.
 - ✓ *Salmonelles*.
- Recherche des germes aérobies viables totaux :
 - ❖ *Mode opératoire* :
 - *préparation de l'échantillon* :
 - Prélever 10g (20 cp) à partir d'un mélange moyen des échantillons et les diluer dans 90 ml de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7.0 contenant du tween.
 - Homogénéiser pour obtenir «l'homogénéisât A», c'est la dilution 1/10 (10^{-1}).
 - Effectuer deux autres dilutions au 1/10, à partir de la première dilution dans la même solution tampon, pour obtenir les dilutions 10^{-2} et 10^{-3} .
 - *Ensemencement en profondeur* :
 - utiliser des boîtes d'un diamètre de 90mm.
 - Introduire dans chacune d'elles 1ml de la dilution préparée d'échantillon à contrôler. Ajouter 15ml à 20ml (à une température ne dépassant pas 45°C), d'un milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja liquéfié pour les *bactéries* et 15 à 20 ml (à une température ne dépassant pas 45°C) d'un milieu gélosé Sabouraud-glucosé avec antibiotiques liquéfié pour les *levures* et *moisissures*.
 - Préparer au moins deux boîtes de Pétri par dilution et par milieu.
 - Incuber à 30-35°C pour les bactéries pendant 48h, et à 20-25°C pour les levures et moisissures, pendant 5 jours.

❖ Lecture :

- ✓ Sélectionner les boîtes correspondant à une dilution et présentant le plus grand nombre de colonies inférieur à 300 (100 pour les levures et moisissures).
- ✓ Faire la moyenne arithmétique des dénombrements des deux boîtes de la dilution sélectionnée ensuite calculer le nombre d'unités formant colonie par gramme de produit en multipliant par l'inverse de la dilution sélectionnée.

● Recherche des micro-organismes spécifiques :**✓ Les Entérobactéries :**

On effectue la détection ou l'évaluation quantitative des Entérobactéries :

❖ Mode opératoire :**A/Détection des bactéries :****➤ Pré enrichissement :**

- Prélever 10g (20cp) du produit et les diluer dans 100ml de bouillon lactosé c'est «l'homogénéisât B».
- Homogénéiser et incuber le flacon à 35-37°C pendant 2 à 5 h pour revivifications.

➤ Enrichissement :

- Prélever à l'aide d'une pipette graduée stérile 1 ml de "homogénéisât B" .
- Introduire dans un tube contenant 9 ml de bouillon Mossel (dilution 10^{-1}).
- Effectuer deux autres dilutions au 1/10 à partir de la première dilution dans bouillon Mossel.
- Incuber toutes les dilutions à 30 à 35°C pendant 24 à 48h.

❖ Lecture :

Si les tubes ne présentent aucun trouble microbien et aucun virage de couleur, ils sont considérés comme négatifs (-), alors il y a absence d'Entérobactéries. Mais, si les tubes présentent un trouble microbien et un virage de couleur, ils sont considérés comme positifs (+) pouvant contenir des Entérobactéries, on procède alors à un repiquage.

B /Evaluation quantitatif :**➤ Repiquage :**

- Prélever quatre gouttes, à partir des tubes (+) et à l'aide d'une pipette stérile,
- Ensemencées en profondeur sur la gélose gélose à la bile-violet cristallisé-rouge neutre avec glucose (VRBG).
- Incuber les boîtes à 30 à 35°C pendant 24h à 48h.

❖ **Lecture :**

✓ La croissance des colonies rouges avec un halo rougeâtre révèle la présence des *Entérobactéries*. Le dénombrement se fait selon la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP).

✓ **Escherichia coli :**

- Prélever à l'aide d'une pipette graduée stérile 10 ml de "homogénéisât A" .
- Introduire dans un flacon contenant 100 ml de milieu liquide eau peptonée de caséine et de soja (CASO).
- Homogénéiser et incuber à 30 à 35°C pendant 24 à 48h.
- Agiter le récipient puis prélever 1ml et l'introduire dans un flacon contenant 100ml du milieu liquide de Mac Conkey.
- Incuber à 43 - 45°C pendant 24 à 48h.
- Effectuer des subcultures sur deux boîtes de milieu gélosé de Mac Conkey.
- Incuber à 30 à 35°C pendant 24-72h.

❖ **Lecture :**

La croissance des colonies rouges non mucoides, de bactéries en bâtonnets indique la présence d'E Coli, qui est confirmé par des tests biochimiques appropriés .

● **Recherche des germes pathogènes :**✓ **Staphylococcus aureus :**❖ **Mode opératoire :**

- Prélever 10ml de l'échantillon à analyser à partir de même « l'homogénéisât A » et l'introduire dans un flacon de 100 ml de milieu liquide eau peptonée de caséine et de soja (CASO).
- Homogénéiser et incuber le flacon à 30 à 35°C pendant 24 à 48heures.
- Effectuer des subcultures sur gélose Chapman (prélever 0,1ml de CASO et l'ensemencer sur deux boîtes de pétrie), après 48heures d'incubation,
- Incuber la boîte à une température de 30-35°C pendant 24-72 heures.

❖ **Lecture :**

Leur présence se manifeste par des petites colonies jaunes avec un halo jaune.

NB : Une confirmation peut être obtenue par les tests biochimiques.

❖ *Pseudomonas aeruginosa* :**❖ *Mode opératoire* :**

- Prélever 10ml d'échantillon à partir de même « homogénéisât A » et l'introduire dans 90ml de milieu liquide à la peptone de caséine et de soja.
- Homogénéiser et incuber à 30-35 °C pendant 24- 48h.
 - Effectuer des subcultures sur milieu gélosé Cétrimide (prélever 0,1ml de CASO et l'ensemencer sur deux boites de pétrie).
- Incuber à 30-35°C pendant 24-72h.

❖ *Interprétation des résultats* :

S'il apparaît des colonies à bâtonnets gram négatifs, ensemencer du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja avec une partie des colonies morphologiquement différentes isoler et incuber à 41-43°C pendant 18 à 24 h.

Le produit est satisfait à l'essai s'il n'est pas observé des colonies de type décrit ou si les tests biochimiques de confirmation sont négatifs.

Pseudomonas aeruginosa se sont des colonies bleues ou bleues vertes fluorescentes sur cetrimide.

✓ *Salmonelles* :

- Prélever 10g (20 cp) à partir d'un mélange moyen des échantillons, les diluer dans 90 ml de milieu liquide aux peptones de caséine et de soja contenant du tween.
- Homogénéiser et incuber à 30-35°C pendant 24h.
- Agiter le récipient puis prélever 1ml et l'introduire dans 9 ml de milieu liquide au tetrathionate-bile-vert brillant.
- Incuber à 41-43°C pendant 24h.
- Effectuer des subcultures sur deux boites contenant le milieu gélose -xylose-lysine-desoxycholate.
- Incuber à 30-35°C pendant 24-72h.

❖ *Lecture* :

La présence des *Salmonelles* se manifeste par des colonies bien développer rouges ou rougeâtres avec ou sans centre noir.

II.2.4. Contrôle toxicologique du produit fini :

Le contrôle de l'innocuité se fait en phase de développement mais aussi comme un contrôle de routine du médicament.

C'est un test réalisé in vivo, dans le but de relever par méthode biologique la présence d'une ou de plusieurs anomalies de nature variée du produit, afin d'assurer une sécurité supplémentaire du médicament.

❖ *Principe :*

L'essai consiste à administrer par voie intra gastrique (voie orale) une dose du produit aux souris relativement élevée par rapport à la dose thérapeutique afin de détecter une éventuelle toxicité due aux substances surajoutées accidentellement pendant la fabrication.

❖ *Mode opératoire :*

A – Préparation de l'échantillon :

Faire dissoudre un comprimé de PRIMAZOL 400mg/80mg qui correspond à une concentration de 1200mg/Kg dans 10ml de Na Cl 0,9 % stérile, ajouter quelques gouttes de Tween 80.

B – Préparation de l'animal :

Sélectionner un lot de 5 souris ;

- ✓ Espèce : *Souris albinos*.
- ✓ Origine : Elevage CRD / SAIDAL.
- ✓ Poids : 17 à 24 g.
- ✓ Sexe : Male.
- ✓ Alimentation : Granulés de production locale.
- ✓ Boisson : Eau de ville.
- ✓ Conditions d'élevage : Température de 20 à 24°C, humidité de 50 à 60 %.
- ✓ Les souris sont mises à jeun la veille du contrôle.

C – Mode d'administration :

L'essai consiste à administrer par voie orale 0,5 ml de la solution préparée pour chaque souris (volume maximal toléré pour des souris de 20 gr) à l'aide d'une seringue de 2ml.

D– Observation :

Les souris sont gardées en observation pendant 48 heures afin de détecter d'éventuels effets toxiques, ou mortels à la dose administrée.

III - Résultats et discussion:**III.1. Contrôle physicochimique :**

Les résultats obtenus lors du contrôle physicochimique des matières premières, du produit semi-fini et du produit fini sont représentés dans les tableaux VIII, IX, X et XI. selon les normes exigées par la pharmacopée européenne 2008.

III.1.1 Contrôle physicochimique des matières premières :**Tableau VIII : Contrôle physicochimique du principe actif (Sulfaméthoxazole) :**

TESTS	Lecture	NORME PE 2008	RESULTATS
*Caractères :			
➤ Aspect	Une poudre cristalline blanche.	poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche.	Conforme
➤ Solubilité	La poudre est insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, assez soluble dans l'éthanol, se dissout dans d'hydroxyde de sodium diluée et dans l'acide chloridrique dilué.	La poudre est pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, assez soluble dans l'éthanol, se dissout dans d'hydroxyde de sodium diluée et dans l'acide chloridrique dilué.	Conforme
*Identification	Spectre d'essai est comparable au spectre de référence (SCR).	Spectre d'essai correspond en position et en intensité au spectre de référence(SCR).	Conforme
Essais limites :			
➤ Acidité	Pas de virage de couleur.	Pas de virage de couleur.	Conforme
➤ Perte à la dessiccation	0.416%	$\leq 0.5\%$	Conforme
➤ Cendres sulfuriques	0.068%	$\leq 0.5\%$	Conforme
➤ Métaux lourds	Absence de coloration brune.	Apparition de coloration brune, la coloration brune de la solution à examiner n'est plus intense que celle de la solution témoin	Conforme
➤ dosage	99.97%	99%-101%	conforme

✓ Les principaux pics du spectre obtenu lors de l'examen d'identification du Sulfaméthoxazole sont représentés dans les figures (01,02 et 03) :

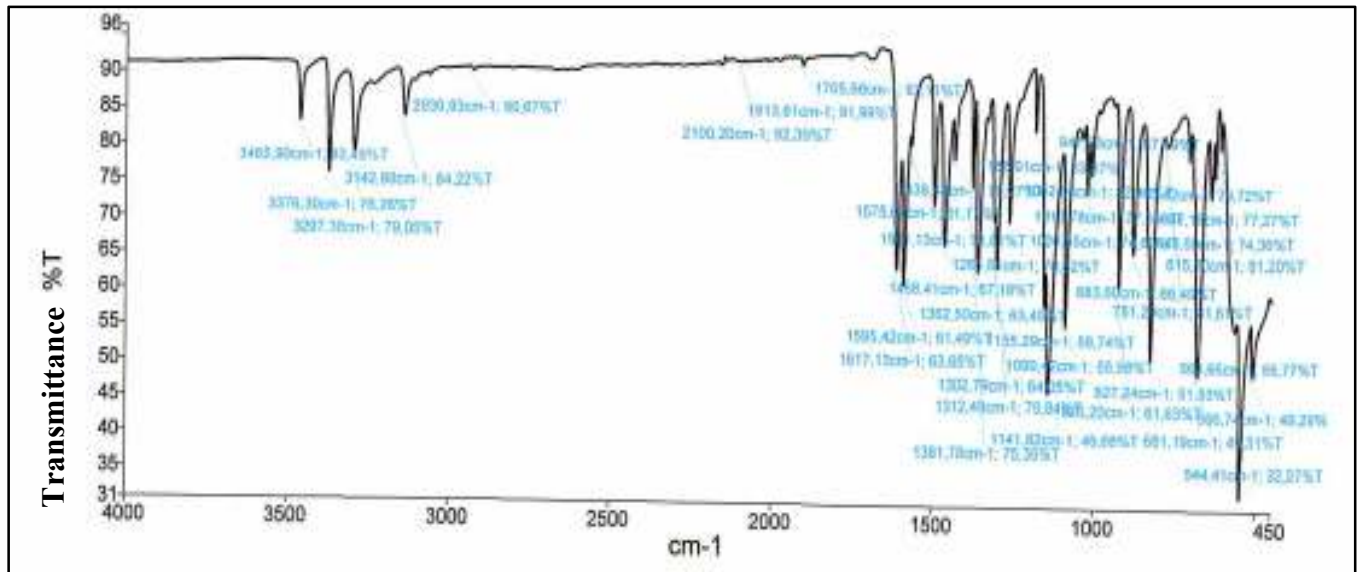


Figure (01): Spectre d'absorption du Sulfaméthoxazole par IR «essai».

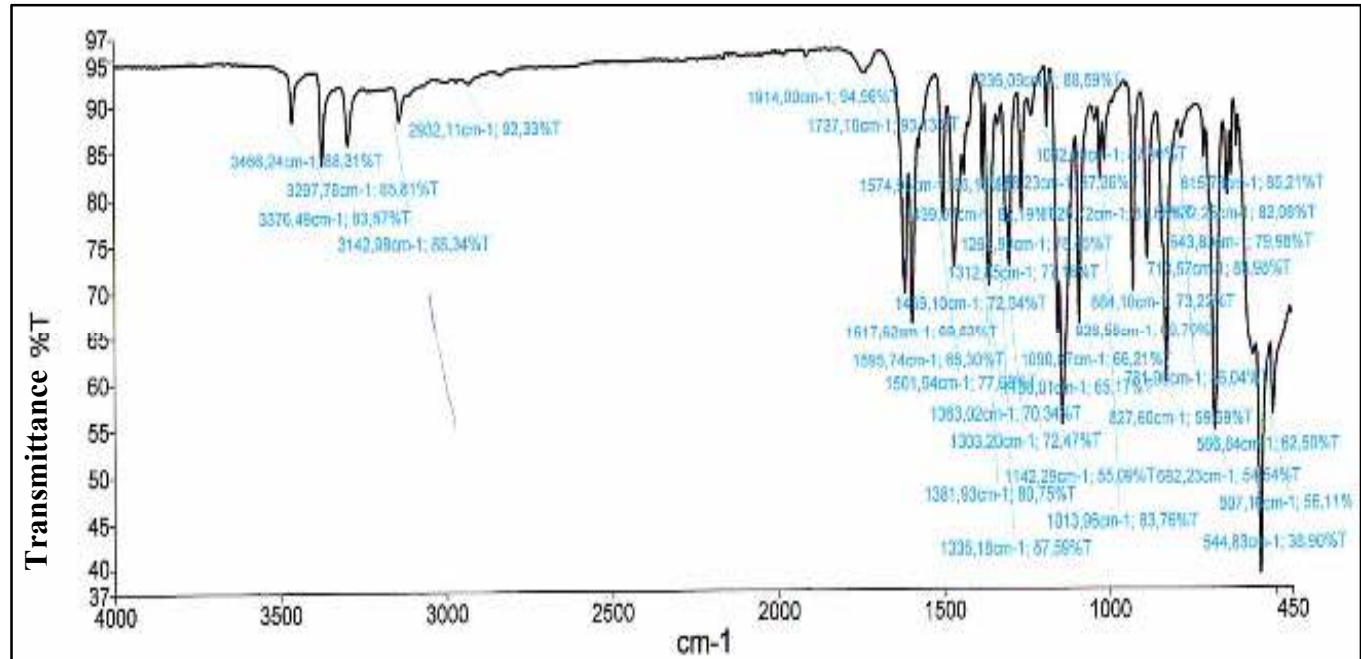


Figure (02): Spectre d'absorption du Sulfaméthoxazole par IR « SCR ».

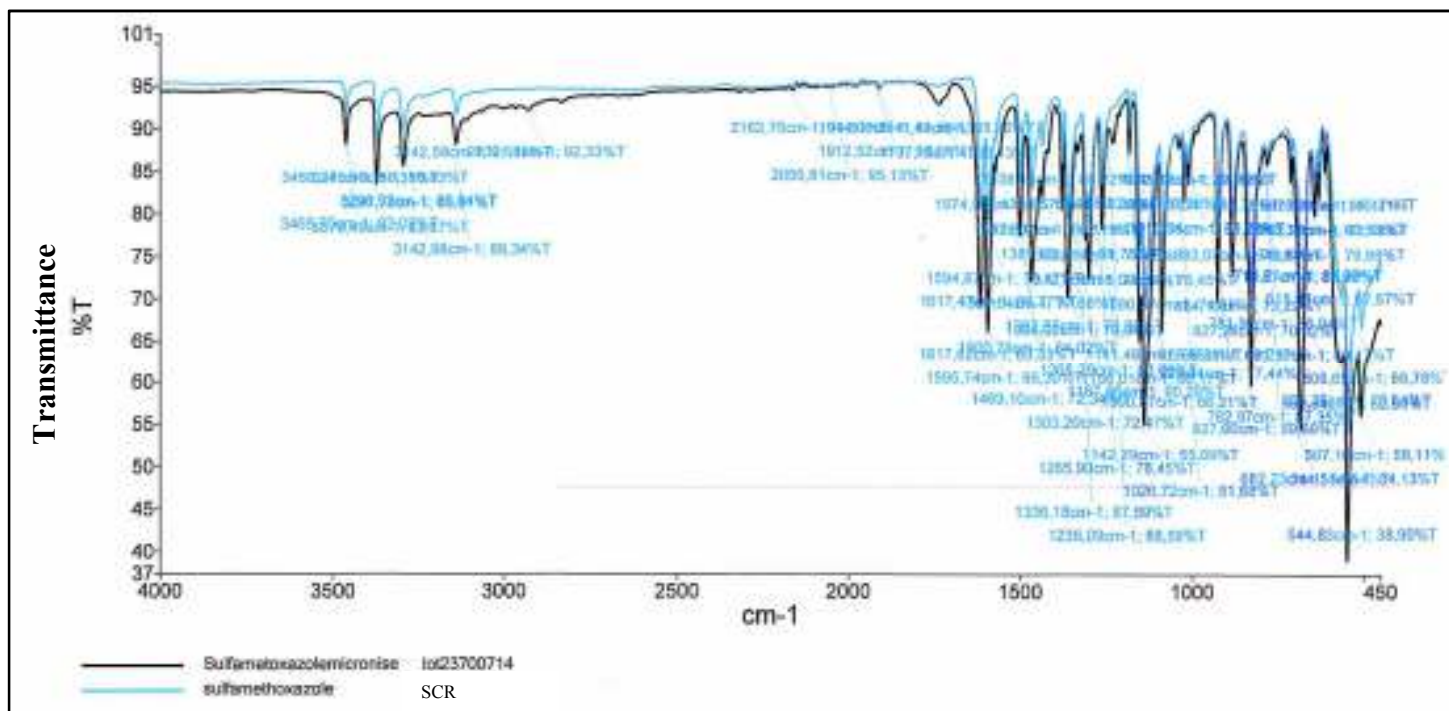


Figure (03): comparaison de spectre d'absorption du Sulfaméthoxazole par IR avec sa substance de référence.

Tableau IX : Contrôle physicochimique du principe actif (Triméthoprime) :

<i>TESTS</i>	<i>Lecture</i>	<i>NORMES PE 2008</i>	<i>RESULTATS</i>
*Caractères :			
➤ Aspect	Poudre cristalline blanche brillante.	poudre cristalline blanche ou blanc-jaune.	Conforme
➤ Solubilité	La poudre insoluble dans l'eau, assez soluble dans l'éthanol.	pratiquement insoluble dans l'eau, assez soluble dans l'éthanol.	Conforme
*Identification :			
➤ Spectre infrarouge	Spectre d'essai est comparable au spectre de référence (SCR).	Spectre d'essai correspond en position et en intensité au spectre de référence(SCR).	Conforme
*Essais limites :			
➤ perte à la dessiccation	0.28%	$\leq 1\%$	Conforme
➤ cendres sulfuriques	0.0059%	$\leq 0.1\%$	Conforme
➤ métaux lourds	Absence de coloration brune.	Apparition de coloration brune, la coloration brune de la solution à examiner n'est plus intense que celle de la solution témoin.	Conforme
➤ Dosage	99.03%	98.5%-101%	Conforme

- ✓ Les principaux pics du spectre obtenu lors de l'examen d'identification du Triméthoprime sont représentés dans **les figures (04,05 et 06) :**

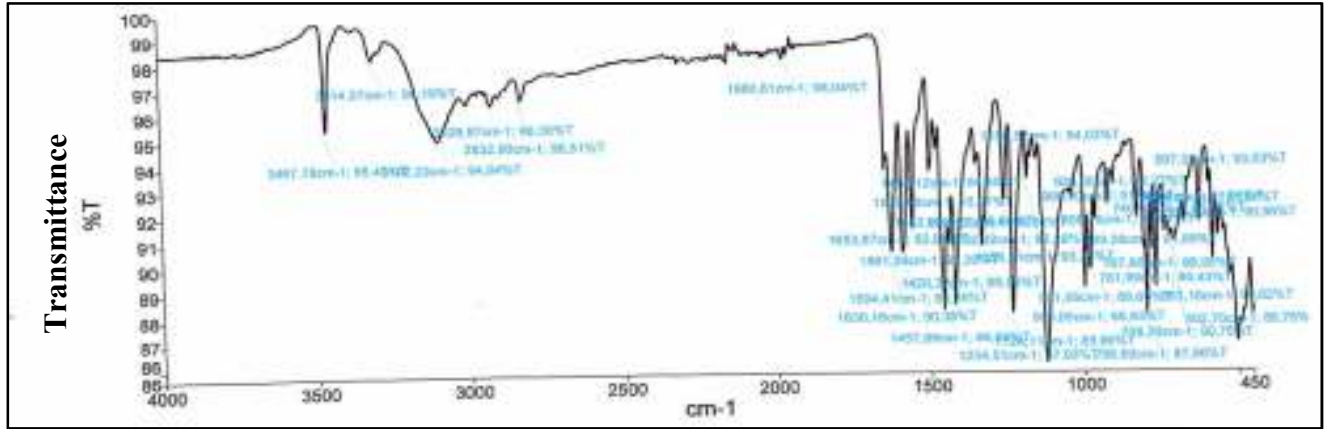


Figure (04): Spectre d'absorption du Triméthoprime par IR «essai».

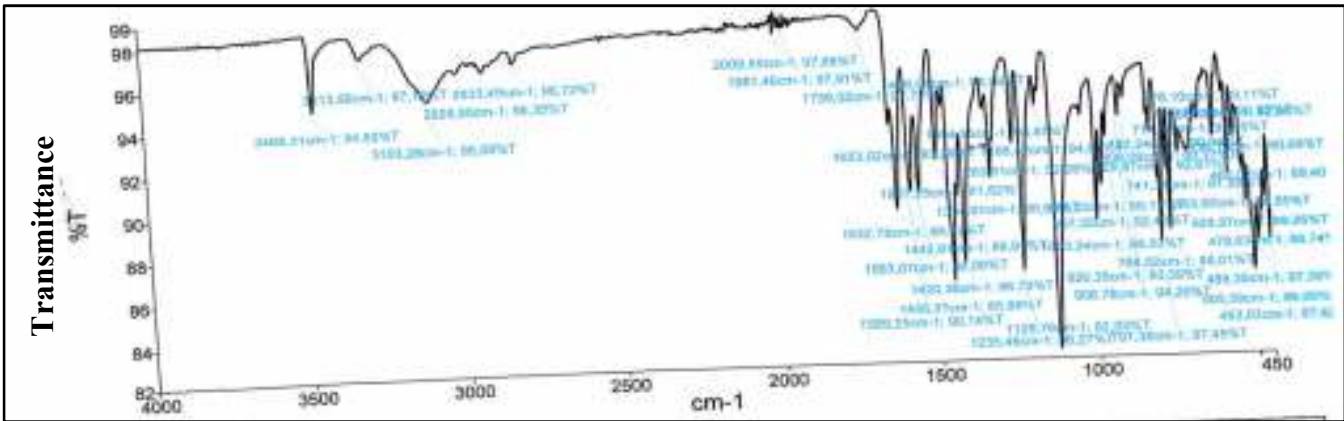


Figure (05) : Spectre d'absorption du Triméthoprime par IR « SCR ».

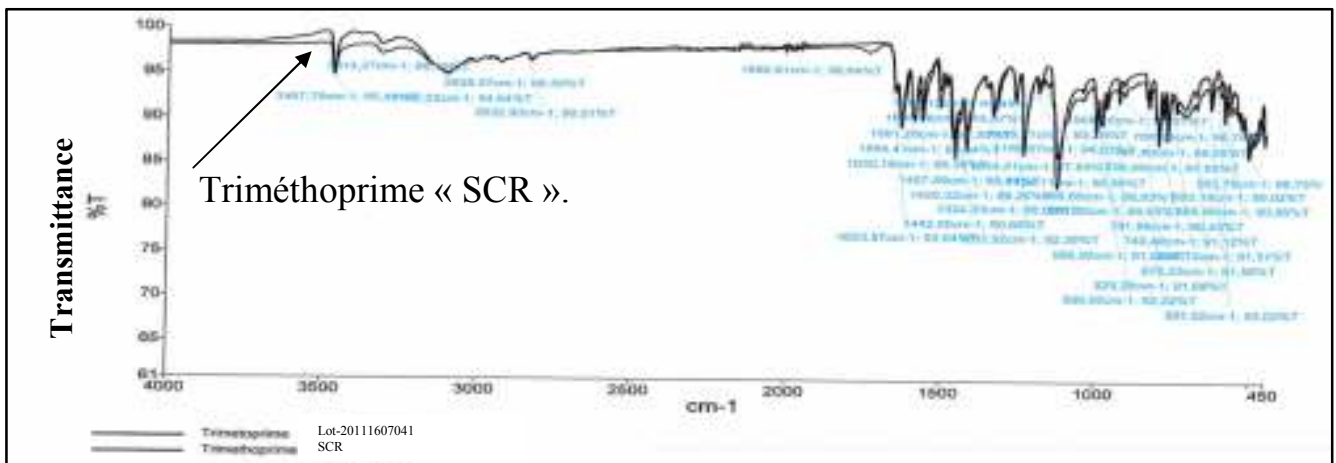


Figure (06): comparaison de spectre d'absorption du Triméthoprime par IR avec sa substance de référence.

- Les différents résultats obtenus lors du contrôle physicochimique des matières premières à savoir les deux principes actifs ont montré que :
 - Le contrôle organoleptique visant à vérifier l'homogénéité de l'aspect et de la couleur était satisfaisant, selon les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).
 - L'identification réalisée par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge(IR) était conforme aux normes.

Les bandes du spectre de Sulfaméthoxazole et de triméthoprime sont identique (correspond en position et en intensité) au spectre de référence SCR à 97%, qui sont en accord avec les normes (>92%).

- Selon (**Hellali, 2002**), plus la valeur de la perte à la dessiccation est moindre, plus l'hydratation est faible et plus notre P.A est de bonne qualité, elle assure aussi la bonne conservation ce qui limite les risques de contamination microbienne de cette matière au cours de stockage
- Les valeurs du pourcentage des cendres sulfuriques montrent la faible présence d'impuretés minérales.

Selon (**Hellali, 2002**), tout P.A doit contenir le plus faible pourcentage d'impuretés minérales que possible. Ces dernières pouvant influencer la qualité du produit fini, par conséquent réduire l'efficacité thérapeutique du médicament.

- Selon (**Kortz et Trechel, 2006**), la présence d'une ou plusieurs substances étrangères comme les métaux lourds au sein d'une substance chimique peut avoir comme résultats d'abaisser l'efficacité mais aussi d'augmenter la toxicité lorsque l'impureté est particulièrement nocive. La présence des impuretés même à l'état de traces abaisse la température de fusion.
- Selon (**Hozé, 2011**), l'effet bénéfique ou toxique d'un PA a une intensité qui dépend de la dose administrée et par conséquent de sa concentration plasmatique ou tissulaire.

La conformité des résultats obtenus pour ces substances indique la bonne qualité des matières premières

III.1.2. Contrôle physicochimique de produit semi fini (grain) :

Tableau X: Contrôle physicochimique du grain :

Tests	Lecture	Normes PE 2008	Résultats
➤ Dosage : ➤ Sulfaméthoxazole 400mg ➤ Triméthoprime 80mg	97.52% 96.35%	92.5%-107.5%	Conforme

Les résultats obtenus lors des tests physicochimiques de produit semi-fini sont entièrement en accord avec les normes décrites par la pharmacopée européenne(2008).

✓ Le dosage du produit semi-fini donne la valeur suivante 97.52% pour le Sulfaméthoxazole et de 96.35% pour le Triméthoprime. Elle est comprise dans l'intervalle de la norme, ce qui confirme l'homogénéité du mélange et le produit est bien dosé ainsi que la bonne maîtrise des étapes de production et le respect des quantités des matières introduites ce qui assure le bon dosage de produit fini selon **(Le Hir et al., 2009)**.

III.1.3. Contrôle physicochimique du produit fini :

Tableau XI : Contrôle physicochimique du produit fini :

<i>TESTS</i>	<i>Lecture</i>	<i>NORMES PE 2008</i>	<i>RESULTATS</i>
*Caractères :			
➤ Aspect et Couleur	Comprimé blanc, semi bombé et lisse.	Comprimé blanc, semi bombé et lisse	Conforme
*Essais limite			
➤ Poids moyenne	503.3mg	484.5mg à 535.5mg	Conforme
➤ Uniformité de masse	Mmin : 497.9 mg Mmax : 511.6mg	480mg/cp à 534mg/cp	Conforme
➤ Friabilité	0.26%	≤ 1%	Conforme
➤ Temps de délitement	6.14 min	≤ 15 min	Conforme
➤ Test de dissolution	91.84 %	≥ 70%	Conforme
➤ Dosage			
• Sulfaméthoxazole 400mg	404mg/cp, 101.00%	370mg/cp à 430mg/cp	Conforme
• Triméthoprim 80mg	79.41mg/cp, 99.26%	74mg/cp à 86mg/cp 92.5% à 107.5%	

Les résultats obtenus lors du contrôle physicochimique du produit fini sont conformes aux normes décrites par la pharmacopée Européenne (2008).

➤ Le produit fini se présente sous forme de comprimé blanc, semi bombé et lisse. Avec une masse moyenne de 503.3 mg qui est incluse dans l'intervalle de la norme indiquée par la pharmacopée européenne (484.5 mg à 505.5 mg), ce qui indique la bonne maîtrise et le respect d'une part de toutes les étapes de fabrication de produit fini PRIMAZOL 400mg/80mg et d'autre part des règles de BPF.

Selon (**Glorry , 2008**), la qualité d'un médicament peut être aussi évaluée par l'uniformité de sa forme pharmaceutique. En effet la couleur, la taille, le poids et la forme du médicament ne doivent pas varier dans un même lot ou d'un lot à l'autre.

Selon (**Le Hir et al., 2009**) , on vérifie le poids moyen d'un échantillon de dix comprimés ,cette masse doit rester entre les limites fixées au départ.

✓ Uniformité de masse : les comprimés sont uniforme, leur poids inclus dans l'intervalle de norme, ce qui confirme que tous les comprimés ont la même quantité des matières. On constate que les masses minimales et maximales de comprimé sont inclus dans les intervalles préconisé par la **Pharmacopée Européenne, 2008**.

Selon (**le Hir et al ., 2009**), l'essai d'uniformité de masse n'est exigé que pour les comprimés non enrobés. Un écart de masse unitaire permet de détecter par exemple le dérèglement de la machine de compression, ce qui peut passer inaperçu avec un simple examen de la masse moyenne. L'essai d'uniformité de dimensions est important parce qu'il a une relation avec le poids, la résistance mécanique, la désagrégation des noyaux et la pression appliquée lors de la compression.

✓ Le taux de friabilité donne un résultat de 0.26 % qui reste en dessous de la norme ≤ 1 %, ceci indique l'aptitude des comprimés à résister à la rupture lors de leur conditionnement ainsi que de leur transport.

Selon (**Le Hir et al ., 2009**) ,la perte de masse de comprimé doit être minime sinon les comprimés du lot risquent de ne pas pouvoir supporter toutes les manipulations qu'ils auront à subir jusqu'au moment de l'utilisation.

✓ Le temps de délitement est de 6.14 minutes, sachant que la norme est ≤ 15 minutes. On pourra dire que la désintégration du comprimé dans l'eau ainsi que la dispersion du principe actif se fait en un temps court.

Selon (**Le Hir et al., 2009**) , il ne doit rester aucun résidu sur les grilles. S'il reste une masse molle, on vérifie que celle-ci ne comporte pas de noyau dur. La dissolution complète des comprimés démontre que ces derniers ont un noyau fort.

✓ La moyenne de la vitesse de dissolution des 6 comprimés est de 91.84% ; elle est nettement supérieure à celle imposée par la norme (75 %) ; cela indique une grande disponibilité du produit conduisant à un effet thérapeutique plus favorable.

Selon (LANDRY, 2007), le test de dissolution est une exigence pour toutes les formes solides, il s'agit d'un test analytique clé, c'est une estimation de la libération du principe actif de sa forme galénique dans le tractus digestif.

Pour chaque phase de développement du produit, le test de dissolution présente un intérêt :

- En pré-formulation, connaître la solubilité du P.A ;
 - En développement, aide à l'optimisation de la formule et du processus de fabrication ;
 - En contrôle de routine, assurer la qualité et les performances des produits pharmaceutiques ;
 - Etude d'équivalence in vitro, comparaison des profils de dissolution entre princeps et générique.
- ✓ Le dosage du produit fini donne la valeur suivante 404mg/cp pour le Sulfaméthoxazole et de 79.41mg/cp pour le Triméthoprime .Elle est comprise dans l'intervalle de la norme exigé par la Pharmacopée Européenne (2008), ce qui confirme que ce produit est bien dosé ainsi que la bonne maîtrise de production et le respect des quantités des matières introduites.

Selon (Aventis, 2001), le choix de la dose, permet d'adopter le traitement à la gravité de la maladie .

Selon (Hozé, 2011), l'effet bénéfique ou toxique d'un PA a une intensité qui dépend de la dose administrée et par conséquent de sa concentration plasmatique ou tissulaire.

III.2. Contrôle microbiologique de produit fini :

Les résultats obtenus lors du contrôle microbiologique du produit fini sont représentés dans les tableaux XII. Selon les normes exigées par la pharmacopée Européenne (2011) .

Tableau XII : Résultats de contrôle microbiologique de produit fini :

Tests	Lecture de Lot 80	Normes PE 2011	Résultats
Dénombrement des bactéries aérobies viables totales (UFC/g) :			
Dénombrement des :		< 10³ UFC/ml	Conforme
Bactéries et	00		
levures -moisissures	00		
Titrage des entérobactéries	00	< 200 UFC/ml	Conforme
Et Escherichia coli	00		
Recherche des Staphylococcus aureus	Absence	Absence	Conforme
Recherche des Pseudomonas aeruginosa	Absence	Absence	Conforme
Recherche des Salmonelles	Absence	Absence	Conforme

Le PRIMAZOL 400mg /80mg est exempt de germes viables totaux : *bactéries, levures* et *moisissures*, malgré que la norme tolère leur présence à des valeurs bien définies. L'absence totale des germes pathogènes : **Entérobactéries, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa** et les **Salmonelles** sont en accord avec les normes exigé par la pharmacopée Européenne (2011), ce qui confirme la pureté microbiologique du produit fini.

Selon (**Boudry et Brizelle,2006**) , le produit fini est de bonne qualité microbiologique, ceci est due au préalable à sa nature qui est défavorable au développement bactérien ; ainsi qu'au respect des règles de bonnes pratiques de fabrication et de l'hygiène qui conduit à la réduction de la contamination au cours des différentes étapes de fabrication.

➤ L'absence de ces microorganismes est attribuée à :

-L'origine synthétique des matières qui est défavorable au développement microbien ;

-L'état hygiénique des équipements utilisé ;

-L'emballage étanche au développement des microorganismes ;

-Le prélèvement et l'analyse ont été fait dans de conditions d'asepsies stricte ;

-Le personnel manipulateur applique les bonnes règles d'hygiène ;

-Le transfert, la préparation et le conditionnement ont été bien réalisés.

III.3. Contrôle toxicologique de produit fini :

Les résultats de test d'innocuité de produit fini sont représentés dans le tableau XIII. Selon les normes exigées par la pharmacopée Européenne (2011)

Tableau XIII : Résultats de contrôle toxicologique de produit fini.

Temps de lecture (heures)	Test de mortalité sur 5 souris					Normes PE 2011	Résultats
	1	2	3	4	5		
Après 30 min	00	00	00	00	00	Aucune mortalité	Conforme
Après 1 h	00	00	00	00	00	Aucune mortalité	Conforme
Après 24 h	00	00	00	00	00	Aucune mortalité	Conforme
Après 48h	00	00	00	00	00	Aucune mortalité	Conforme

00 : Pas de mortalité.

➤ Les deux premières lectures après 30min et 1h faite sur les 5 souris n'ont révélé aucunes anomalies ainsi que de mortalité à la dose administrée 1200 mg/Kg.

- Les deux lectures faites après 24h et 48h n'ont montré, à son tour, aucune anomalie ni mortalité sur les 5 souris.
- Cette absence totale de toxicité démontre une parfaite innocuité du "PRIMAZOL 400mg/80mg".
- Ces résultats s'accordent avec les normes décrites par pharmacopée Européenne (2011).

D'après (**Hoet et Haufroid, 2003**) , la fiabilité des résultats du contrôle de la toxicité dépend non seulement de l'exactitude et de la précision de la technique utilisée, mais aussi des méthodes de collecte et de stockage des échantillons. Elle dépend aussi du risque de contamination lors du prélèvement et des impuretés présentes dans la matière première qui put avoir une incidence sur la toxicité. Les impuretés peuvent être la conséquence de la présence des solvants résiduels, métaux lourds et des produits de désagrégation.

Conclusion

Notre étude consiste à vérifier la qualité et la sécurité d'un antibiotique non obligatoirement stérile PRIMAZOL 400mg/80mg. Pour avoir l'autorisation de commercialisation.

Le principal objectif est porté en premier lieu sur la vérification de la qualité des matières premières, produit semi-fini et du produit fini PRIMAZOL 400mg/80mg. Les résultats obtenus révèlent :

- Une bonne qualité physicochimique des principes actifs, de produit semi-fini et du produit fini conformes à la pharmacopée européenne (2008), elle prouve le respect des bonnes pratiques de fabrication.
- Les analyses microbiologiques du produit fini reflètent : Un bon nettoyage du matériel et des locaux avant de procéder à la fabrication et le respect des bonnes pratiques d'hygiène par le personnel et des conditions de conservation au niveau des magasins de stockage.
- Les résultats du contrôle toxicologique révèlent une tolérance de produit.

Cependant, malgré que les résultats du contrôle du PRIMAZOL 400mg/80mg sont conformes, il faut rester vigilant en tenant compte de :

- **Milieu** : maîtrise de l'environnement selon sa criticité.
- **Main d'œuvre** : qualifiée, motivée le personnel et le sensibiliser à travailler dans des bonnes conditions d'hygiène.
- **Méthode** : importance de documentation, fonction donc actualisée.
- **Matériels** : importance de maintenance et nettoyage rigoureux de tous les appareils et les locaux.
- **Matières** : les approvisionnements doivent répondre à la norme.
- **Maitriser les paramètres** : humidité et température afin d'inhiber la prolifération bactérienne, un conditionnement adéquat et un bon stockage s'imposent impérativement en priorité.

Références bibliographiques

- ❖ Aiache.J-M, Aiache.S et Renaux.R, 2001 -Initiation à la connaissance du médicament, 5^{ème} Ed Masson, Paris., Pp17, 18.
- ❖ AFNOR, 1987 - Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide ,miscibles à l'eau et neutralisables ,détermination de l'activité bactericide et fongicide ,3^{ème} édition , Paris .,Np150,pp34.
- ❖ Allo.O,Blanc.P et Dalmasso.M-A.,2005-Pharmacie galénique ,B .P,2^{iem} Edition,Groupeliasion SA., Np250,pp130.
- ❖ Boudry.C et Brézellec .H, 2006- Cahier du préparateur en pharmacie, Microbiologie-Immunologie exercices d'application ,2^{iem} édition porphyre, France.,Np 245,pp 24-25.
- ❖ Brigitte.C, Florence.H, Alain.H , Lionel.R et Serge. C,2008-Guide du préparateur en pharmacie ,Edition Elsevier Masson SAS.,Np1358,pp 839-857.
- ❖ Bertram.G K, 2000-Pharmacologie fondamentale et clinique ,7^{iem} Edition Piccin Nuova Libraria S.P.A., Np 1113, pp787-791.
- ❖ Bourgeois. C-M, Leveau .J-Y, 2001 -technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire, 4^{ème} Edition, Paris, TEC et DOC., Np 860, pp93.
- ❖ Cohen.Y et Jacquot. C , 2008-Pharmacologie,6^{iem} édition Elsevier Masson SAS., Np487,pp344-388.
- ❖ Colomber .F, 2010- HPLC Principe et appareillage, 6^{iem} édition., Np 480, pp264.
- ❖ Dictionnaire CRD, 2005-Dictionnaire des médicaments Sidal, Science et santé, centre de recherche et de développement, édition 2005. Np 633.pp508-526.
- ❖ Dossier pharmaceutique ,2010 -Groupe SAIDAL, fiche pharmaceutique.
- ❖ Feinberg .M, 2001- l'assurance qualité dans les laboratoires agro alimentaire et pharmaceutique, 2^{ème} édition Masson, Paris.,Np 587,pp355.
- ❖ Gaudy.C et Buxeraud .J, 2005-Antibiotiques, Pharmacologie et thérapeutique .Edition Elsevier SAS .Np 269.pp 203-215.
- ❖ Gazengel.J M, 2007 –Le préparateur en pharmacie,pharmacologie,Edition Tec et Doc.,Np282.pp 19-35.
- ❖ Glorry Panzu Mavwanda, 2008- Le préparateur en pharmacie ,guide théorique et pratique .3^{iem} édition TEC et DOC, Paris., Np 469,pp271.
- ❖ Hallali, 2002 -Pharmacologie fondamentale et chimique, ENAG édition. Np150, pp14-17.

- ❖ Hoet .P et Haufroid .V,2003-Surveillance biologique des expositions toxiques environnementales et professionnelles .Edition Scientifique et Médicales Elsevier S A S.Paris.,Np250,pp1.
- ❖ Hozé, 2011-Précis des médicaments. Edition du nouveau pédagogique INC. Np1043,pp 413.
- ❖ Juillet .Y,Astier.A, Belleville.M-C et Bonneman.B, 2012-Rapport de l'académie nationale de pharmacie «médicament générique»,Np95,pp14.
- ❖ Kortz J.C et Triechel JCP.M, 2006 - Chimie générale, Edition de boeck .,Np 597,pp263.
- ❖ Le juez.V, 2001 -Bonne pratique microbiologique de laboratoire STP Pharm-Pratique, Technique réglementaire, Vol11.p123.
- ❖ Le Hir.A, 2001 - pharmacie galénique bonnes pratiques de fabrication des médicaments .Masson, Paris.Pp16- 22.
- ❖ Le Hir.A, ChaumeilJ-C et Brossad.D, 2009-Pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 9^{iem} édition Elsevier Masson SAS., Np 382,pp 240-254.
- ❖ Landrys.Y, 2007-Dictionnaire pharmaceutique, pharmacologie et chimie des médicaments. Edition LAVOISIER TEC et DOC. Np 2065, pp 921.
- ❖ Levacher .E, 2006 – Pharmacologie industrielle : Coordination Technique et Rédactionnelle .Edition imt., Np230,pp5.
- ❖ Lechat P, 2006-Pharmacologie, Edition Masson, Paris., Np1209, pp349.
- ❖ Mathieu.M et Fonteneau.J-M, 2008 -Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie, édition porphyre, France ., Np978, pp527-799.
- ❖ Montiel.A ,1996 - L'assurance de qualité de laboratoires, analysis, Vol 9,P116.
- ❖ Moulin.M et Coquerel.A, 2002 – Pharmacologie, connaissances et pratique. 2^{iem} édition Masson, Paris. Np845.pp234-238.
- ❖ Mouton.Y, Benigen.E, Deboscker.Y et Dubrenil.L,2000-Antibiotiques, Antiviraux,Anti-infectieux,Edition Jolm Zibbey Eurotext,Paris.Np 277.pp35-39.
- ❖ Rodier.J et Coll, 2005 : Analyse de l'eau. 8^{ème} édition, Dunod , Paris .Np 8013,pp 507.
- ❖ Selloum .N-E et Faure .S, 2015 -Les cours de L2-M2-pharmacie du mécanisme d'action des médicaments à la thérapeutique, Science du médicament, édition Elsevier Masson SAS., Np461, pp360-364.

- ❖ Talbert.M ,Willoquet.G et Gervais.R,2006-Infectiologie -Guide pharmaceutique, 6^{iem} édition Lamarre.,Np170,pp31.
- ❖ Vidal, 2013-Le dictionnaire Vidal, 89^{iem} édition ., Np2510.pp249-250.
- ❖ Weherlé .P, 2007 -Pharmacie galénique« formulation et technologie pharmaceutique» .Edition Maloine ,Paris.,Np185,pp 4,5,6.

Annexe 01 : Equipements utilisés

➤ **L'équipement est utilisé pour le contrôle physicochimie :**



pH mètre (pH 540GLP Multical®)



Four à moufle



Desséccateure



Balance à haute précision



Etuve



Bain marie Ultra-San



Dissolu- Test (Erweka DT6)



Appareille pour le temps de délitement



Friabilimetre



Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

➤ **L'équipement est utilisé pour le contrôle microbiologique :**



Etuve à 25 °C



Etuve à 44 °C

Annexe 02 :

➤ **Le matériel utilisé pour le contrôle toxicologique :**



Mode d'administration du comprimé PRIMAZOL 400mg/ 80mg par voie orale.

Annexe 01 :

- **Milieux de cultures :** selon la pharmacopée européenne de l'année 2008, la composition des milieux de culture utilisée est la suivante :

❖ **Milieu Sabouraud :**

Peptone de viande ou caseine	10g
Glucose mono-hydraté	4.0g
Agar	1.5g
Eau purifiée	1000 ml
pH =5.6 ±0.2	

❖ **Milieu gélosé aux peptone de caséine et de soja :**

Peptone pancréatique de caséine	15.0g
Peptone papaique de soja	5.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Agar	15.0g
Eau distillée	q.s.p 1000ml
pH 7.3 ±0.2	

❖ **Milieu liquide aux peptones de caséines et de soja :**

Peptone pancréatique de caséine	17.0g
Peptone papaique de soja	3.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Glucose mono-hydraté	2.5g
Phosphate di-potassique	2.5g
Eau distillée	q.s.p 1000ml
pH 7.3 ±0.2	

❖ **Milieu gélosé de Mac Conkey :**

Hydrolysats pancréatique de gélatine	17.0g
Peptones de viande et de caséine	3.0g
Lactose mono-hydraté	10.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Sels biliaires	1.5g
Gélose	13.5g
Rouge neutre	30.0mg
Violet cristallisé	1.0mg
Eau distillée	q.s.p 1000ml
pH 7.1	

❖ *Milieu gélosé Cetrimide :*

Peptone de gélatine	16.0 g
Peptone de caséine	10.0 g
Bromure de tétradonium (cétrimide):	0.2 g
Acide nalidixique:.	15.0 mg
Sulfate de potassium	10.0 g
Chlorure de magnésium.	1.4 g
Agar	10.0 g
Eau purifiée	1000 ml

❖ *Milieu d'enrichissements pour les entérobactéries Mossel :*

Hydrolysate pancréatique de gélatine	10.0g
Glucose monohydrate	5.0g
Bile de bœuf déshydraté	20.0g
Phosphate di sodique di hydraté	8.0g
Phosphate mono potassique	2.0g
Vert brillant	15.0g
Eau purifiée	1000ml
pH = 7.2 ± 0.2	

❖ *Agar sélectif Vojel-Johnson :*

Peptone de caséine	10.0g
Extrait de levure	5.0g
D(-) mannitol	10.0g
Chlorure de lithium	5.0g
Glycine	10.0g
Rouge de phénol	0.025g
Agar	13.0g
Potassium de tellurite	0.02g
Eau purifiée	1000ml
pH = 6.8 ± 0.2	

❖ *Bouillon liquide lactosé :*

Extrait de viande de bœuf	3.00g
Hydrolysate pancréatique de gélatine	5.0g
Lactose monohydrate	5.0g
Eau purifiée	1000 ml

❖ *Milieu gélosé Viande Foie :*

Base viande foie	30g
Glucose	2 g
Amidon	2g
Sulfite de sodium	2 .5g
Sel de fer	0.5g
Agar	11g
Eau purifiée	1000ml
pH= 7.7 ± 0.1	

❖ *Milieu gélosé count agar :*

Peptone de caseine	5 g
Extrait de levure	2.5g
Glucose	1g
Agar	18g
Eau purifiée	1000ml
pH= 7	

❖ *Milieu peptone tamponné au chlorure de sodium :*

Phosphate monopotassique	3.26g
Phosphate disodique dihydraté	7.2 g
Chlorure de sodium	4.3 g
Peptone de viande ou de caseine	2.0mg
Eau purifiée	1000 ml

2-Matériel utilisé pour le contrôle toxicologique :

*Cages à contention pour souris.

*Balance pour animaux « marque GIBERTINI », capacité 0 – 7500g, « précision 0.1g ».

*Balance analytique « marque SARTORIUS ».

* Compresses.

*Seringue de 2ml.

*Le Na Cl 0.9%.

*Eau distillé.

*Tween 80

❖ Les différents milieux de culture :



Bouillon Mac Conkey



Bouillon Caso avec Tween



Bouillon lactosé avec Tween



Agar -Caso



Agar Vogel Johnson



Agar Cetrimide



Agar Mac Conkey



Agar Sabouraud



Bouillon Mossel

Annexes 03:

➤ **Résultats pour le contrôle physicochimique :**

✓ **Matières premières :**

✓ **Sulfaméthoxazole 400mg :**

1-calcul de perte à la dessiccation :

$$Pd \% = \frac{(Pv + Pe) - Pf}{Pe} \times 100 = \frac{(99.663 + 1.0085) - 100.6673}{1.0085} \times 100 = 0.416\%$$

2-calcul des Cendres sulfuriques :

$$Cs \% = \frac{(Pf - Pv)}{Pe} \times 100 = \frac{(19.4986 - 19.4979)}{1.02759} \times 100 = 0.068\%$$

3-calcul de dosage du Sulfaméthoxazole 400mg :

$$Dg \% = \frac{V \times CT \times N}{Pe \times (100 - Pd)} = \frac{7.9 \times 25.33 \times 0.1}{0.2010 \times (100 - 0.068)} \times 100 = 99.97\%$$

✓ **Triméthoprime 80mg :**

1-calcul de la Perte à la dessiccation :

$$Pd = \frac{(Pv + Pe) - Pf}{Pe} \times 100 = \frac{(67.588 + 1.0708) - 68.6558}{1.0708} = 0.28\%$$

2-calcul des Cendres sulfuriques :

$$Cs \% = \frac{Pf - Pv}{Pe} \times 100 = \frac{19.0978 - 19.0972}{1.0012} \times 100 = 0.0059\%.$$

3-calcul de dosage de Triméthoprime 80mg :

$$Dg \% = \frac{V \times ct \times N}{Pe \times (100 - Pd)} \times 100 = \frac{9.1 \times 29.03 \times 0.1}{0.2675 \times (100 - 0.28)} \times 100 = 99.03\%.$$

✓ **Produit semi- fini :**

➤ **Calcul de dosage de produit semi-fini :**

✓ **Calcul de dosage de Sulfaméthoxazole 400mg dans le produit semi-fini :**

$$Dg\% = \frac{Se \times Pt \times Pm}{St \times Pe \times Dgt} \times Te = \frac{4127445 \times 81.3 \times 510}{4386980 \times 100.3 \times 400} \times 100.6 = 97.52\%.$$

✓ **Calcul de dosage de Triméthopriime 80mg dans le produit semi-fini :**

$$Dg\% = \frac{Se \times Pt \times Pm}{St \times Pe \times Dgt} \times Te = \frac{298350 \times 17.6 \times 510}{346565 \times 100.3 \times 80} \times 100.6 = 97.52\%.$$

➤ **Produit fini :**

✓ **Calcul de poids moyen :**

$$PM = \frac{P1 + P2 + \dots + P10}{N} = \frac{498.2 + 496.5 + 495.8 + 503.6 + 494.1 + 505.6 + 507.5 + 513.4 + 503.5 + 509.3}{10} = 503.3 \text{mg}.$$

✓ **Calcul de l'uniformité de masse :**

$$MM = \frac{P1 + P2 + \dots + P20}{N} = 507.79 \text{mg}$$

$$T_1 = \frac{MM \times 5}{100} = \frac{507.79 \times 5}{100} = 25.38 \text{mg}.$$

$$T_2 = \frac{MM \times 10}{100} = \frac{507.79 \times 10}{100} = 50.77 \text{mg}.$$

***Poids des 20cp en mg:**

507.3	510.1	512.8	510.9	506.11	506.3	510.2	504.9	511.6	509.2
510.3	504.7	510.8	505.9	502.0	510.2	502.9	514.9	497.9	506.5

✓ **Calcul de dosage de produit fini :**

✓ **Calcul de dosage de Sulfaméthoxazole 400mg dans le produit fini :**

$$Dg\% = \frac{Se \times Pt \times Pm}{St \times Pe \times Dgt} \times Te = \frac{4288230 \times 81.3 \times 507.4}{4386980 \times 100.3 \times 400} \times 1.005 = 404.03 \text{mg/cp} = 101.00\%.$$

✓ **Calcul de dosage de Triméthopriime 80mg dans le produit fini :**

$$Dg\% = \frac{Se \times Pt \times Pm}{St \times Pe \times Dgt} \times Te = \frac{308947 \times 17.6 \times 507.4}{346565 \times 100.3 \times 80} \times 1.006 = 79.41 \text{ mg/cp} = 99.26\%.$$

✓ Résultats de test de dissolution :

$$X = \frac{Se \text{ Sulfaméthoxazole de l'essai}}{St \text{ Sulfaméthoxazol de témoin}} \times \frac{Pet}{50} \times \frac{1}{10} \times \frac{900}{Pec} \times Pm.$$

$$Y = \frac{Se \text{ Triméthoprime de l'essai}}{St \text{ Triméthoprime de témoin}} \times \frac{Pet}{50} \times \frac{1}{10} \times \frac{900}{Pec} \times Pm.$$

*Pm=503.3mg, Pet Sulfaméthoxazol= 81.3mg, Pet Triméthoprime= 17.6mg.

$$TD\% = \frac{X + Y}{480} \times 100 .$$

* Calcul de TD %:

Vases	Se Sulfaméthoxazol	Se Triméthoprime	X mg	Y mg	TD %
Témoin	4652542	348821	/	/	/
Vase 1	12049599	874111	381.67	79.73	96.12
Vase 2	11387534	851661	360.70	77.69	91.33
Vase 3	11279150	845219	357.26	77.10	90.49
Vase 4	11923329	867077	377.67	79.09	95.15
Vase 5	11039199	822274	349.66	75.01	88.47
Vase 6	11220847	813117	355.42	74.17	89.47

✚ Les résultats de dosage de produit fini par HPLC(leschromatogrammes):

Témoin

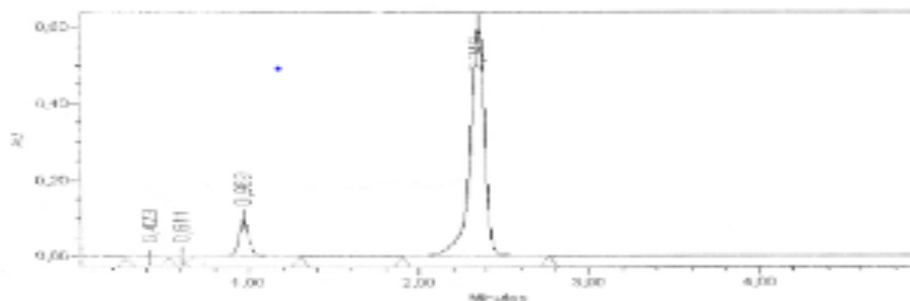


Figure 07 : Chromatogramme représentant le dosage de “PRIMAZOL 400mg /80mg ” dans la solution témoin.

Essai

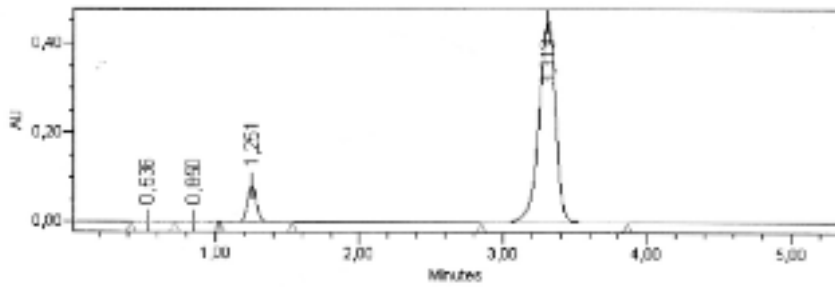


Figure 08:Chromatogramme représentant le dosage de produit fini “PRIMAZOL 400mg/80mg ”.

✚ Les résultats de test de dissolution par HPLC(les chromatogrammes):

Dissolution lot 080
Témoin

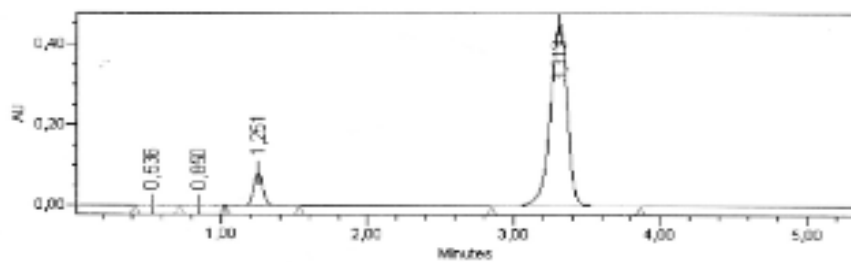


Figure 09 : Chromatogramme représentant le dosage de “PRIMAZOL 400mg /80mg ” dans la solution témoin.

Essai 1

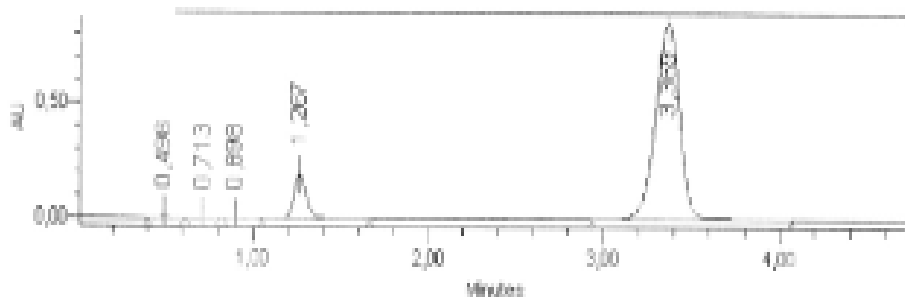


Figure10 : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini “PRIMAZOL 400mg/80mg ” pour cp1.

Essai 2

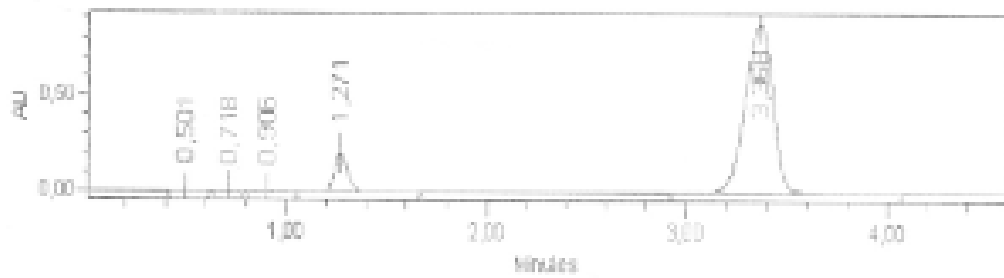


Figure 11 : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini “PRIMAZOL 400mg/80mg ” pour cp 2.

Essai 3

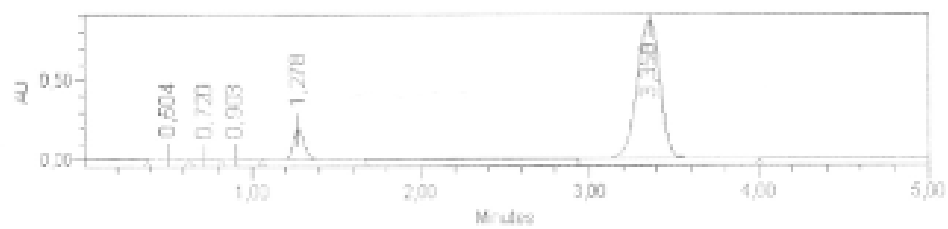


Figure 12 : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini “PRIMAZOL 400mg/80mg ” pour cp 3.

Essai 4

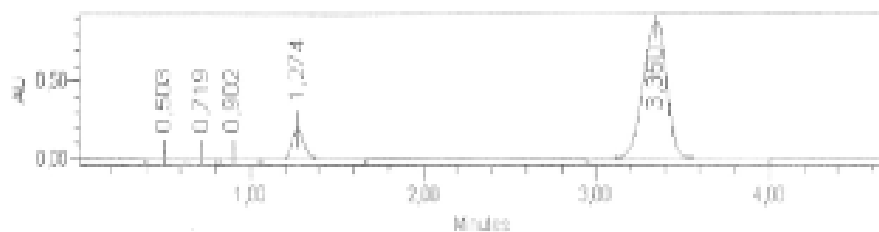


Figure 13 : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini “PRIMAZOL 400mg/80mg ” pour cp 4.

Essai 5

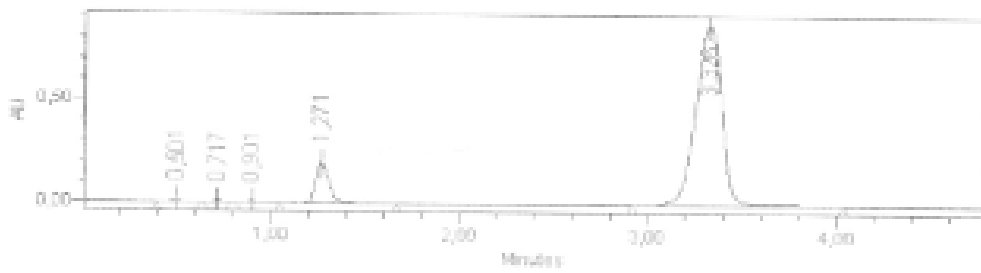


Figure 14 : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini “PRIMAZOL 400mg/80mg ” pour cp 5.

Essai 6

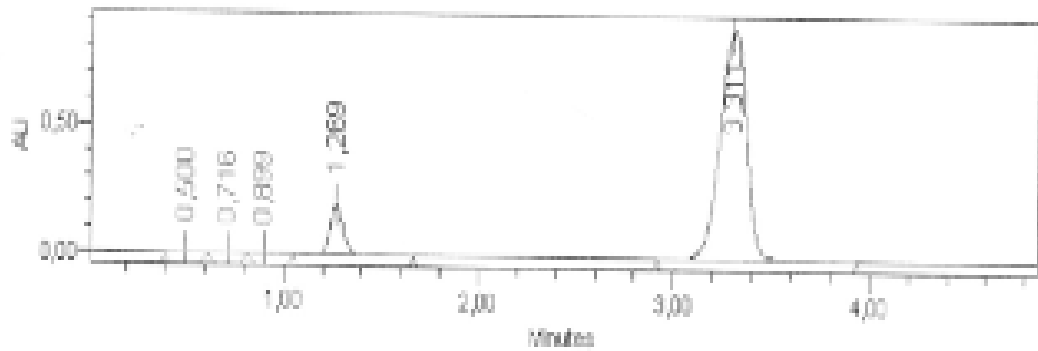
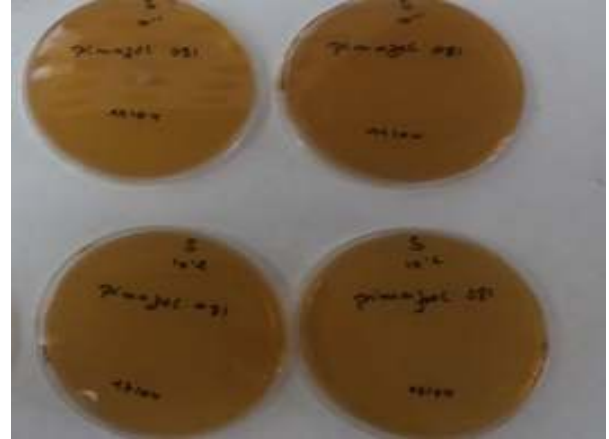
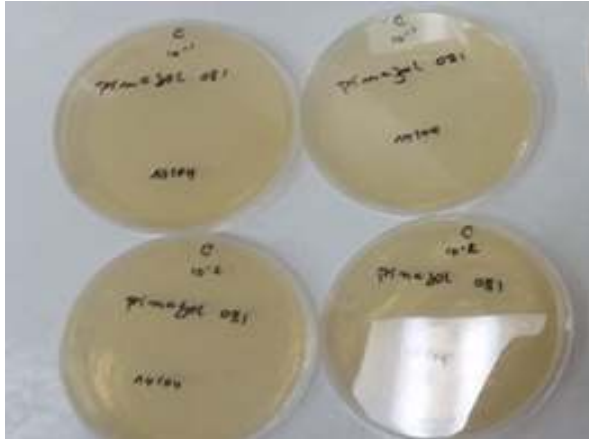


Figure 15 : Chromatogramme représentant le dosage de produit fini “PRIMAZOL 400mg/80mg ” pour cp 6.

Annexe03

✚ Résultats de contrôle microbiologique de produit fini :

La recherche de *Pseudomonas aeruginosa* Denombrement des germes aerobies viables totaux



❖ La recherche de *Staphylococcus aureus*



La recherche de *E.coli*



La recherche des Enterobacteries



INTRODUCTION

I-Etude Bibliographique

II- Matériel et Méthodes

III-Résultats et discussion

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes