



-UNIVERSITE BLIDA 01-



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES POPULATIONS ET DES
ORGANISMES

Mémoire de fin d'Etudes en vue de l'Obtention du Diplôme d'Ingénieur
d'Etat en Biologie

Option : Contrôle de Qualité et Analyse

THEME

*Etude analytique et comparative entre un antibiotique(Gentalline)
et son générique(Gentamine) produit par SAIDAL*

Présenté et soutenu le 26 Juin 2014 par :

M^{elle} : DOUALI Rym

M^{elle} : SEGHIRI Farida

Devant le jury :

M^{ME} : OUADAH.N

Maitre assistante A (UB.1)

Présidente

M^{ME} : CHELGHOUM.H

Maitre assistante A (UB.1)

Examinatrice

M^{ME} : SAYAD.M

Maitre assistante A (UB.1)

Examinatrice

M^{ME} : MAKHLOUF .C

Maitre assistante B (UB.1)

Promotrice

Promotion 2013-2014

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

-UNIVERSITE BLIDA 01-



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES POPULATIONS ET DES
ORGANISMES

Mémoire de fin d'Etudes en vue de l'Obtention du Diplôme d'Ingénieur
d'Etat en Biologie

Option : Contrôle de Qualité et Analyse

THEME

*Etude analytique et comparative entre un antibiotique(Gentalline)
et son générique(Gentamine) produit par SAIDAL*

Présenté et soutenu le 26 Juin 2014 par :

M^{elle} : DOUALI Rym
M^{elle} : SEGHIRI Farida

Devant le jury :

M ^{ME} : OUADAH.N	Maitre assistante A (UB.1)	Présidente
M ^{ME} : CHELGHOUM.H	Maitre assistante A (UB.1)	Examinatrice
M ^{ME} : SAYAD.M	Maitre assistante A (UB.1)	Examinatrice
M ^{ME} : MAKHLOUF .C	Maitre assistante B (UB.1)	Promotrice

Promotion 2013-2014

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions le bon Dieu le tout puissant d'avoir guidé nos pas et nous avoir donné le courage pour faire ce travail ;

Au terme de ce travail qu'il nous soit permis de témoigner nos sincères remerciements à ceux qui ont participé d'une manière ou d'une autre de près ou de loin à la réalisation de ce travail en particulier à :

Mlle MAKHLOUF Chahrazed maître assistante chargée de cours à l'Université SAAD DAHLEB de Blida pour le fait de prendre en main l'encadrement de ce travail.

Nous tenons à présenter également nos sincères remerciements à l'équipe du laboratoire de contrôle de qualité du complexe SAIDAL-ANTIBIOTICAL de Médéa, en tête le directeur du complexe, de nous avoir accordé la chance d'obtenir ces jours de stage que nous n'espérions plus ;

Et nous remercions particulièrement Mr Lazreg Bachir, les chefs des départements Mme Bakhti Farida et Mr Benomière Mourad, les techniciens et les analystes du laboratoire de physico-chimie (Bachir, Fouad, Hayat, Tayeb, Boukhatem), de microbiologie (Ouredothmane, Hantabli Abd/z, Bénaïche Fouzia, Bellatrèche Souad, Dergah Khaled), et à Mr Fahis Mohamed) pour nous avoir bien dirigé et nous autoriser à manipuler.

A l'honorable jury :

- Mme : Ouadah.N
- Mme : Chelghoum.H
- Mlle : Sayad.M

Nous vous remercions d'avoir bien voulu participer à l'évaluation de ce travail qu'il nous soit permis d'exprimer ici notre profonde reconnaissance.

Nos remerciements les plus chaleureux à tous nos enseignants qui ont assuré notre formation et toutes les personnes qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

DEDICACE

Je dédie ce travail

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Et qui m'ont éclairé mon chemin et m'ont soutenu toute au long de mes études.

A mon cher frère Kheireddine.

A toutes les personnes de ma famille ceux qui ont été mes sources d'inspiration tout au long de mon chemin.

A la famille Agha Yasmine, Baghdad.Saliha, Hamza, Kada.

A mes amis du département biologie avec qui j'ai passé les meilleurs moments de ma vie : Meriem, Louiza, Khadidja, Sihem, Sisi, Amina, Ouahiba, El hadi, Wail, Oussama, Akram, Ikram et sans oublier bien sur mon binome Farida.

Rym

DEDICACE

Je dédie ce travail à...

Mes très chers parents

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez.

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils et pour mener à bien mes études.

A mes chers frères

Othmane, Djamel elddine, Abdou, chaouki

A mes chères

Mimi, Zinab, Intissar, Naziha, Samira, et surtout ma belle-sœur fatma pour leurs encouragements et leur aide. Isra, Zola, Zoubida, Lamia, mon binôme Rym

A mes chers

AHMED, Mohamed, Saad, Ali

A ma belle-famille Madoui

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Farida

Résumé

Le travail que nous avons effectué porte sur une étude comparative d'un antibiotique(Gentalline) et son générique (Gentamine).

Pour cela nous avons réalisé des tests physico-chimiques (aspect, solubilité, chromatographie sur couche mince) et d'autres biologiques (dosages microbiologique, test de stérilité, LAL test) pour la matière première et produits finis.

A la lumière des résultats obtenues il ressort que :

La matière première Gentamicine sulfate utilisée par SAIDAL présente les caractéristiques physico-chimiques et biologiques idéales, donc elle est de bonne qualité.

Tous les produits finis sont conformes aux normes :

La GETAMINE et la GENTALLINE possèdent la même composition qualitative en principe actif sauf que les excipients sont modifiés cas de la (GENTAMINE).

Les résultats obtenus montrent que les antibiotiques étudiés répondent aux normes des Pharmacopées Européenne, 2008 du point de vue qualitatif et quantitatif.

Mots clés :

Gentalline, Gentamine, générique, dosage, antibiotique.

Abstract

The work we have done deals with a comparative study of an antibiotic (Gentalline) and generic (gentamine).

For this we made biological physicochemical tests (appearance, solubility, thin layer chromatography) and others (microbiological assays, sterility test, LAL test) for raw material and finished products.

In light of the results obtained shows that:

The first material Gentamicin sulfate used by SAIDAL this ideal physico-chemical and biological characteristics, it is good.

All finished products conform to:

The GETAMINE and Gentalline have the same qualitative composition of active ingredient except that excipients are modified case of (gentamine).

The results obtained show that the antibiotics studied meet the standards of European Pharmacopoeia, 2008 qualitative and quantitative point of view.

Keys words :

Gentalline, Gentamine, generic, dosage, antibiotic.

المخلص

العمل الذي قمنا به يتعامل مع دراسة مقارنة لمضاد Gentalline و النوعية, Gentamine لهذا قدمنا الاختبارات حيوي

الفيزيائية البيولوجية (المظهر . الذوبان . طبقة رقيقة اللون). و غيرهم (فحوصات ميكروبيولوجية و اختبار LAL العقم . اختبار) للمادة الأولية و المنتجات النهائية.

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها تبين أن

المادة الأولية كبريتات الجنتامسين المستخدمة من قبل صيدال لها الخصائص الفيزيائية و البيولوجية مثالية لذلك فهي جيدة.

جميع المنتجات النهائية مطابقة و لها نفس التركيب النوعي للعنصر الفعال باستثناء الحالة التي يتم تعديلها من Gentamine. السواغات

النتائج التي تحصلنا عليها تشير إلى أن المضادات الحيوية المدروسة متطابقة مع معايير دستور الأدوية الأوروبية من حيث الكمية و النوعية.

الكلمات المفتاحية

Gentalline, Gentamine جنيس. تركيز مضادات حيوية.

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction	01
Chapitre I : Etude bibliographique	02
I.1. Généralité sur les médicaments.....	02
I.1.1. Définition d'un médicament.....	02
I.1.2. Médicaments spécialités et génériques.....	02
I.1.3. Mise en forme d'un médicament.....	03
I.1.4. La dénomination des médicaments.....	04
I.1.5. Fonction des médicaments.....	04
I.1.6. Les différents types de médicaments.....	05
I.1.7. Les différentes formes pharmaceutiques des médicaments.....	06
I.2. Contrôle de qualité des médicaments.....	06
I.2.1. Contrôle de qualité.....	06
I.2.2. Qualité pharmaceutique.....	08
I.3.3. Les différents types de contrôles d'un médicament.....	09
I. Généralité sur les antibiotiques.....	11
I.1. Historique.....	11
I.2. Définition d'un antibiotique.....	11
I.3. Classification des antibiotiques.....	11
I.4. Les grandes familles des antibiotiques.....	13

I.5.Mécanisme d'action.....	14
I.6.Modalité d'utilisation.....	14
I.7.Les aminosides ou aminoglycosides.....	15
I.8.La gentamicine.....	17
Chapitre II : Matériel et méthodes	
II.1.Matériel non biologique.....	24
II.2.Matériel biologique.....	24
II.3.Echantillons contrôlés.....	24
II.1.2.Méthodes.....	25
II.1.3.Echantillonnage.....	25
II.1.4.Protocole expérimental.....	26
II.2.3.Analyses physico-chimiques de la matière première.....	28
II.2.3.1.Identification et caractérisation de la GS.....	28
II.2.3.2.Aspect et couleur.....	28
II.2.3.3.Solubilité.....	30
II.2.3.4.Etude de la GS en solution.....	30
II.2.3.5.Détermination du pH.....	31
II.2.3.6.Pouvoir rotatoire.....	31
II.2.3.7.Teneur en eau par la méthode de KARL-FISCHER.....	32
II.2.3.8.Détermination du pourcentage des cendres sulfuriques.....	33
II.2.3.9.Dosage du sulfate.....	34
II.2.4.Analyses microbiologiques de la matière première.....	35
II.2.4.1.Test de stérilité.....	35
II.2.4.2.Test de fertilité.....	36

II.2.4.3. Test de Limulus amaebocytes Lysat	36
II.2.4.5. Titre microbiologique.....	38
Chapitre III : Résultats et discussions	
III.1. Résultats des analyses physico-chimiques de la matière première.	45
III.1.1. Identification de la matière première.....	45

Liste des tableaux

Tableau I.....	03
Tableau II.....	06
Tableau III.....	13
Tableau IV.....	16
Tableau V.....	19
Tableau VI.....	25
Tableau VII.....	25
Tableau VIII.....	46
Tableau IX.....	46
Tableau X.....	47
Tableau XI.....	47
Tableau XII.....	48
Tableau XIII.....	50
Tableau XIV.....	51
Tableau XV.....	51
Tableau XVI.....	52
Tableau XVII.....	53
Tableau XVIII.....	54
Tableau XIX.....	55
Tableau XX.....	56
Tableau XXI.....	57
Tableau XXII.....	58
Tableau XXIII.....	59

Liste des figures

Figure 1.....	03
Figure 2.....	07
Figure 3.....	15
Figure 4.....	17
Figure 5.....	27
Figure 6.....	37
Figure 7.....	41
Figure 8.....	42
Figure 9.....	45
Figure 10.....	48
Figure 11.....	49
Figure 12.....	59

Liste des abréviations

A : Adulte.

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché.

ATB : Antibiotique.

ATCC : Américain Type Culture Collection.

BPF : Bonne Pratique de Fabrication.

CSP : Code de la Santé Publique

C_{max} : Concentration Maximale.

CC : Concentration Centrale.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

Ca²⁺ : Calcium.

DCI : Dénomination Commune Internationale.

F : Facteur.

GAVT : Germes Aérobie Viabes Totaux.

G.S : Gentamicine Sulfate.

Inj : Injectable.

I.R : Infra Rouge.

K : Potassium.

KBR : Bromure de Potassium.

KFT : Titrage Karl Fischer.

L.M : Levures et Moisissures.

LAL : Limulus Améboocytes Lysat.

LPS : Lipopolysaccharides.

LCR : Liquide-Céphalo-Rachidien.

Mg²⁺ : Magnésium.

MP : Matière Première.

NB : Notez Bien.

Nacl : Chlorure de Sodium.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

NR : Non Remboursable.

NF : Norme Française.

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

P : Poids

Pe : Pesée.

PRS : Pouvoir Rotatoire Spécifique.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

P.E : Pharmacopée Européenne.

PF : Produit Fini.

® : (registred). Marque Déposée,

Std : Standard.

SSC : Surface Sous la Courbe.

Tmax : Temps Maximal.

T : Titre Microbiologique.

UV : Ultra-Violet.

USP : United States Pharmacopeia.

UFC : Unité Formante Colonie.

V : Volume.

Glossaire

Biodisponibilité : Un terme utilisé pour décrire une propriété pharmaceutique des médicaments.

Galénique : La forme galénique d'un médicament est l'aspect (comprimé, gélule, poudre, ...) sous lequel est présenté celui-ci mais aussi le type d'adsorption du médicament : libération prolongée, gastro résistant, etc. Plus généralement, le galénique est l'étude des formes d'administration des médicaments.

Lot : Quantité d'une matière première, d'un article de conditionnement ou d'un produit fini, fabriqué en une opération ou en série d'opérations, telles qu'elles puissent être considérées comme homogène. Chaque lot est identifié par une série de chiffre et /ou lettre : le numéro de lot.

Pharmacocinétique : Etude de devenir d'un médicament dans l'organisme en fonction du temps et de la dose administrée.

Pyrogène : qui produit de la fièvre.

Tween : Neutralisant permettant la recherche des germes dans des produits contenant des antiseptiques.

Introduction

Introduction

Toutes les découvertes médicales effectuées au cours du XXe siècle sont de plus en plus bénéfiques pour l'humanité. Néanmoins l'antibiotique, dans la mesure où il a fait reculer le taux de mortalité en permettant de guérir certaines maladies infectieuses, est sans doute le médicament dont la découverte a bouleversé la médecine et la démographie. Bien entendu, ces maladies n'ont pas disparu et sont encore la principale cause de mortalité. (Neuman, 1979).

L'antibiotique est l'un des produits de consommation les plus délicats ; sa conception, sa fabrication et sa consommation doivent répondre à des normes strictes, de sorte que son utilisation ne doit comporter aucun risque sur la santé du consommateur. (Carbon, 1995).

Les médicaments produits par l'industrie pharmaceutique avaient permis de sauver plus de 1,5 millions de vie, d'économiser 140 milliards de dollars dans le traitement de la tuberculose et la poliomyélite(1994) donc les médicaments et notamment les antibiotiques jouent le rôle primordial dans la vie quotidienne, malgré toutes les conséquences issue d'utilisation d'un médicament, il reste toujours demander par le patient.(Scriban, 1999).

Par conséquent, les pays du tiers-monde rencontrent un grand problème de couts croissants des antibiotiques et l'augmentation de leur consommation par les populations, cela pousse certains pays à construire des usines thérapeutique essentiel, c'est le cas de l'Algérie qui a décidé de se lancer dans l'industrie d'antibiotiques génériques.

La question qui se pose, les produits génériques sont -ils de bonne qualité par rapport aux références de point de vue analytique ?

L'objectif de cette étude effectué au niveau du complexe ANTIBIOTICAL de MEDEA (SAIDAL) est de :

- Réaliser un contrôle physico-chimique, microbiologique, toxicologique de la matière première et produits finis ;
- Comparer le générique (Gentmaine) et son équivalent (Gentalline) ayant la même forme pharmaceutique et la même dose.

*Chapitre I : Etude
bibliographique*

I.1.Généralités sur les médicaments

I.1.1. Définition d'un médicament

La définition d'un médicament est précisée par l'article L. 5III-I du code de la santé publique (CSP) : « On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant les propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical, ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques... » (Moulin et Coquerel, 2002).

I.1.2. Médicaments spécialités et génériques

I.1.2.1 Spécialités pharmaceutiques

Selon l'article L. 5III-2 du CSP : « la spécialité pharmaceutique est un médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une dénomination spéciale. »

Le principe actif composant une spécialité pharmaceutique est généralement la propriété du laboratoire fabricant, couverte par un brevet assurant une protection pendant actuellement 27ans après l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché (AMM). Au-delà, la molécule peut être commercialisée par un autre laboratoire, mettant alors sur le marché une « copie » ou « produit générique ».(Talbert *et al.*, 2006).

I.1.2.2. Produits génériques

Le CSP définit le médicament générique comme : « ... celle qui a la même composition qualitative et quantitative en principe actif, la même forme pharmaceutique, et dont la bioéquivalence avec la spécialité de référence est démontrée par des études de biodisponibilité appropriées ...». (Talbert *et al.*, 2006).

Les médicaments génériques sont des copies de médicaments originaux qui ne bénéficient plus d'une exclusivité commerciale (levée du brevet d'invention), ils sont destinés à se substituer au médicament original. La firme productrice n'a aucun frais de recherche et de développement. De ce fait, le prix de remboursement du générique est inférieur à celui de la spécialité princeps, ce qui en fait son intérêt. (Lechat, 2006).

I.1.2.3. Principe de bioéquivalence

La définition du médicament générique stipule que la dose du principe actif doit être identique dans le médicament générique et le médicament de référence. Ce sont donc l'ensemble des excipients et des procédés de fabrication qui diffèrent.

Néanmoins ceux -ci peuvent fondamentalement modifier la pharmacocinétique du médicament, il est donc fondamental de vérifier, par des études bien conduites que le générique est bio équivalent à la référence.



Pour qu'un médicament générique soit considéré bio-équivalent à la spécialité de référence, il faut que les valeurs exprimant la quantité et la vitesse (**SSC**, **C_{max}**, **T_{max}**) de passage du principe actif au niveau systémique ne diffèrent pas de plus de 20% c'est-à-dire :(-10%, +10%). Ceci représente numériquement un écart important. Mais en général compatible avec les variations observées en médecine, en biologie. (Lechat, 2006).

Le tableau I représente les différents symboles de la bioéquivalence pour un médicament générique par rapport à un médicament spécialité.

Tableau I : comparaison entre une spécialité et un générique. (Lechat, 2006).

	Spécialité	Générique
Principe actif	Référence	Identique
Forme galénique	Référence	Similaire
Dose par unité de prise	Référence	Identique
Excipients	Eventuellement différents	

L1.3. Mise en forme d'un médicament

Un médicament se compose d'un ou de plusieurs principes actifs et d'excipients, l'ensemble étant contenu dans un récipient. (Talbert et al., 2001). La mise en forme d'un médicament est présentée par la figure 1 :

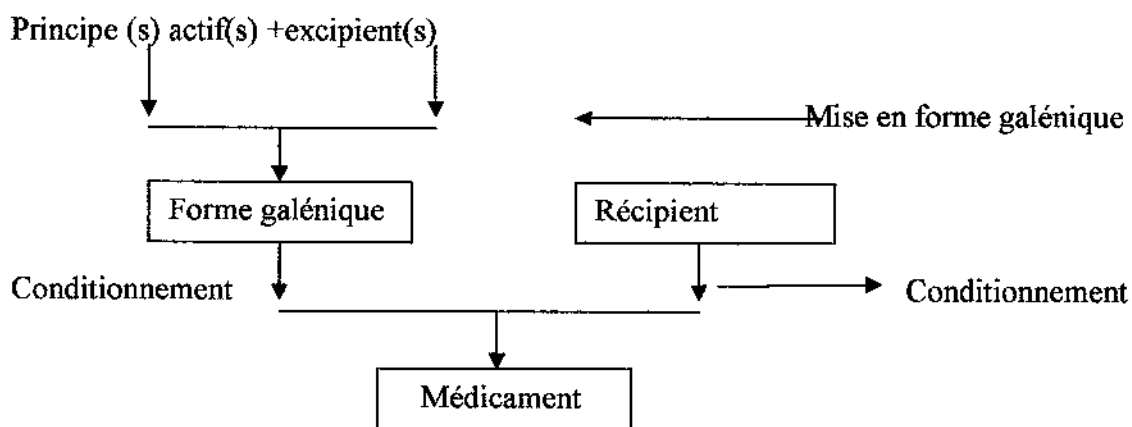


Figure 1 : Mise en forme d'un médicament .(Talbert et al., 2001).

I.1.3.1. Principe actif

Le principe actif est une molécule biologique, minérale ou organique d'origine naturelle ou synthétique qui confère au médicament son activité thérapeutique. L'activité biologique et la toxicité de cette molécule ont été appréciées par des tests appropriés.

Cette substance est la plupart du temps en très faible proportion dans le médicament par rapport aux excipients. (Gagnault, 1972).

I.1.3.2. Excipient

Les excipients utilisés en pharmacie sont extrêmement nombreux, ils peuvent être soit d'origine naturelle, synthétique ou semi-synthétique, à titre d'exemple : l'eau, les glycérides, les cires, les produits minéraux, les conservateurs, les colorants et les aromatisants. (Le Hir, 2002).

I.1.3.3. Récipient

Le récipient (flacon, pilulier, « blister », etc.) est destiné au conditionnement, le protégeant ainsi de l'environnement extérieur. L'ensemble est regroupé dans un emballage accompagné d'une notice explicative. (Talbert et al., 2006).

I.1.4. La dénomination des médicaments

Selon Talbert et al., 2006 chaque médicament possède trois noms :

- **Un nom scientifique ou chimique**

Cette dénomination répondant à la nomenclature internationale mais souvent trop compliquée pour être utilisée en pratique quotidienne ;

- **Une dénomination commune internationale (DCI)**

Cette DCI est attribuée par l'organisation mondiale de la santé (OMS), à chaque principe actif correspond un nom simple et utilisable dans tous les pays.

- **Un nom « spécial » ou « commerciale »**

C'est un nom de marque déposé par le fabricant, le signe « * » ou le signe « ® » veut dire « enregistré », car ces noms sont des propriétés commerciales.

Dans ce domaine du nom de spécialité, l'imagination est reine et la création d'un nom de marque se réfère aux seuls impératifs commerciaux. (Moulin et Coquerel, 2002).

I.1.5. Fonction des médicaments

Selon Moulin et Coquerel, 2002, un médicament peut exercer des fonctions diverses :



I.1.5.1. Fonction thérapeutique

Elle peut être :

- **Préventive** : les fonctions thérapeutiques préventives sont des fonctions individuelles ; (vaccination, prévention individuelle du paludisme, chimio prophylaxies diverses) ou collective (chimio prophylaxies collectives de la méningite et la tuberculose).
- **Curative** : les fonctions thérapeutiques curatives ont des fonctions étiologiques ; le médicament s'attaque à la cause de la maladie, substitutive ; il apporte l'élément manquant à l'organisme, et symptomatique, il s'attaque seulement aux manifestations de la maladie sans pouvoir en traiter la cause.

I.1.5.2. Fonction diagnostique

Il peut s'agir d'opacifiant, de traceurs, d'agents pharmacodynamiques divers, utilisés pour réaliser des explorations fonctionnelles.

I.1.6. Les différents types de médicaments

I.1.6.1. Selon le mode de fabrication

D'après Bourin, 1993, les médicaments peuvent être classés en :

- a) **Médicaments spécialisés** : ils sont préparés conditionnés et standardisés à l'avance par l'intermédiaire de l'industrie pharmaceutique. Ils peuvent être vendus en officine, ou utilisés à l'hôpital.
- b) **Médicaments officinaux** : ils désignent des médicaments préparés en pharmacie ou à l'hôpital suivant une prescription du codex.
- c) **Médicaments magistraux** : ils sont préparés par le pharmacien à la demande d'un médecin ; ce mode de préparation est couramment utilisé en dermatologie.

I.1.6.2. Selon la législation médicamenteuse

En vertu de Aiache *et al.*, 2008, les médicaments peuvent être classés en :

- a) **Liste I** : sont inscrites sur cette liste les spécialités renfermant des substances actives à très faibles doses, leur utilisation pouvant donner lieu à des accidents thérapeutiques fréquents et à des effets indésirables, elle ne doit être faite que sous surveillance médicale.
- b) **Liste II** : elle renferme des produits « dangereux », il s'agit de médicaments qui sont utilisés imprudemment, pourraient donner lieu à des incidents thérapeutiques.
- c) **Stupéfiants** : le médicament est classé stupéfiant lorsque son utilisation risque de créer une dépendance. Sa prescription se fait sur une ordonnance dite sécurisée ou protégée à l'hôpital.

I.1.7. Les différentes formes pharmaceutiques des médicaments

Le choix de la formes galénique appelée aussi forme pharmaceutique ou médicamenteuse découle de celui de la voie d'administration. (Le Hir, 2002), comme il est indiqué dans le tableau II

Tableau II : formes galéniques les plus courantes. (Descotures et al., 1988).

Voies d'administration	Principaux formes galéniques
Orale	Comprimés, gélules, solutions ou suspensions aqueuses.
Parentérale	Solutions aqueuses
Rectale	Suppositoires
Vaginale	Comprimés, solution aqueuses
Ophthalmique	Solutions aqueuses
Aérienne ORL	Solutions aqueuses pulvérisées ou non
Percutanée	Pommades et solutions

I.2. Contrôle de qualité des médicaments

Le concept de contrôle de qualité a débuté dès 1932 chez les industries qui éprouvaient la nécessité de vérifier de manière régulière la qualité des produits usinés. Seul un contrôle de qualité structuré reposant sur des bases statistiques rigoureuses, peut permettre au biologiste de répondre au double impératif : exactitude des résultats rendus et fiabilité. (Aulagner, 1972).

I.2.1. Contrôle de qualité

I.2.1.1. Définition

Le mot "contrôle" peut être utilisé dans le sens de vérification ou dans celui de la maîtrise. Pour vérifier toute ambiguïté, il est préférable de ne l'utiliser que dans le premier sens et de parler de maîtrise dans le second. On peut alors dire que le contrôle consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et à comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies. Pour les produits, il s'agit souvent de la vérification de la conformité à des exigences figurant dans le dossier d'AMM ou à la pharmacopée, la vérification étant généralement suivie d'un tri entre entité conforme ou non conforme. (Le Hir, 2002).

➤ Le but de contrôle de qualité



Le contrôle ne constitue pas lui-même une opération qui crée la qualité, mais il est une source d'information indispensable à la gestion de qualité : une insuffisance du contrôle, qui soit immédiat ou diffère directement ou indirectement, expose l'entreprise à ignorer le niveau de qualité de ses produits. (Le Hir, 2002). La figure 2 récapitule les différentes démarches qui contribuent à « un produit de qualité » :

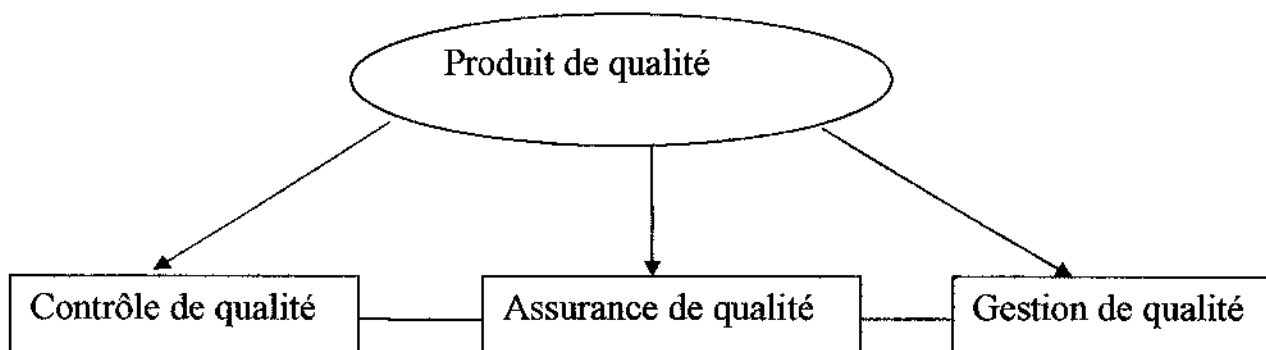


Figure 2 : Les démarches de contribution d'un produit de qualité. (PetitDemange, 1985).

I.2.1.2. Les niveaux de contrôle de la qualité

Le galéniste ne peut assurer la qualité du médicament sans un contrôle rigoureux des matières premières, des principes actifs, des excipients et des articles de conditionnements ainsi que celui du matériel et du produit fini. (Le Hir, 2002).

I.2.1.3. Assurance qualité

Selon les normes NF x 50-111 : " l'assurance de la qualité est la mise en œuvre d'un ensemble approprié de dispositions préétablies et systématiques destiné à donner confiance en obtention de la qualité requise". (Bonne Pratique de Fabrication, 2007).

- **Approprié** : signifie que l'ensemble des dispositions préétablies est adapté à la fonction et à l'usage prévu du produit ou du service.
- **Donner confiance** : constitue un objectif et implique une motivation qui concerne les diverses activités développées, au sein de l'entreprise comme chez le client sur le plan individuel comme sur le plan collectif. (Vandeville, 1985).

➤ But d'assurance de qualité

On a souvent intérêt à faire remonter les contrôles effectués sur le produit le plus en amont possible. Mieux les remplacer par des mesures préventives d'organisation, en évitant les anomalies. L'assurance de qualité répond à doubles avantages :

- Sur le plan de la sécurité : c'est à leurs origines que l'on peut le mieux déceler les causes d'erreurs et par la suite les éviter.
- Sur le plan des coûts : les anomalies et leurs conséquences sont d'autant moins coûteuses qu'elles sont décelées plus tôt.

Elle n'a pas l'objectif d'augmenter la qualité parce que le niveau de la qualité est établi une fois pour toute, mais elle ne garantit une plus grande régularité, et une plus grande

fiabilité et par conséquent son objectif est de ne plus laisser la moindre place à l'erreur. (Le Hir, 2002).

I.2.2. Qualité pharmaceutique

I.2.2.1. Définition de la qualité d'un médicament

Il s'agit de la qualité réalisée pour répondre aux besoins des malades, c'est-à-dire à la qualité décrite dans le dossier de demande d'AMM. Cette description sort de la référence pour la fabrication, car elle a été établie en fonction des données scientifiques de l'étude des paramètres de la qualité, pouvant intervenir dans l'efficacité, l'innocuité et de la stabilité du médicament. (Le Hir, 2002).

Dans l'industrie pharmaceutique, la qualité représente un facteur critique de succès pour toute entreprise, grande ou petite, publique ou privée. Aussi l'organisation nationale et internationale a reconnue l'importance de la qualité. Preuve en est qu'elles publient un nombre sans cesse croissant de normes de directives concernant la qualité. D'une part, ces standards et ces lignes de conduites aident le manager, mais d'autre part, ils limitent son champ d'action. En tout cas, ces dispositions ont le mérite de focaliser l'attention du management de qualité sur la qualité et de contribuer à hausser le niveau des performances, des interventions sur le marché national ou international.

Après avoir publié des normes concernant la qualité des produits et de l'environnement, les organisations de normalisation s'intéressent au présent de la gestion des entreprises et particulièrement au système d'assurance de qualité. (Succland, 1996).

I.2.2.2. Bonnes pratiques de fabrication des médicaments (BPF)

Les BPF constituent un des éléments de l'assurance de la qualité, elles garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente et selon les mesures de qualité adaptées à leur emploi et requises par l'AMM. (Le Hir, 2002).

Selon le même auteur les moyens nécessaires à la mise en œuvre des bonnes pratiques de fabrication sont :

- Un personnel qualifié et formé de façon appropriée.
- Des locaux convenables et suffisamment spacieux.
- Du matériel et des services adéquats.
- Des produits récipients et étiquettes correctes.
- Des procédures et instructions approuvées.
- Un stockage et des moyens de transport appropriés.

I.2.2.3. Autorisation de mise sur le marché

L'AMM est l'accord donné à un médicament pour être commercialisé, par l'autorité compétente du pays concerné, dans le cadre de la sécurité sanitaire et a toute fois, le médicament présente un risque sur la santé publique, il doit être retiré par le laboratoire ou par une demande de l'autorité, et l'AMM sera annulé. (Rosseto, 1998).



I.3.3. Les différents types de contrôles d'un médicament

Le contrôle pharmaceutique concerne la gestion de l'échantillon, de sa réception par le laboratoire jusqu'à l'émission du bulletin des résultats, car ces derniers sont maintenant et de plus en plus dans l'avenir des outils permettant des prises de décision. (Montiel, 1991).

Il consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et à comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies. (Le Hir, 2002).

I.3.3.1. Le contrôle physicochimique

Il s'agit essentiellement, de l'étude des propriétés physicochimiques du principe actif, articles de conditionnement et d'autres produits qui rentrent en contact avec un médicament, (Le Hir, 2002).

Le contrôle physicochimique aura pour rôle de vérifier la molécule et d'établir ses propriétés physiques et chimiques. Il a pour but de vérifier que dans un médicament déterminé, il existe exactement la substance annoncée (analyses qualitatives, réactions d'identification les plus sélectives possibles). Il faudra aussi s'assurer qu'elle est bien présentée en quantité conforme à celle annoncée dans le dosage. (Albert et al, 1974).

➤ Les analyses qualitatives

- Vérifier l'aspect de la substance (la couleur, l'odeur et dans quelques fois le goût).
- Vérifier la solubilité dans l'eau et dans des solvants appropriés. (Albert et al, 1974).

➤ Les études d'identification

Il est bien évident que le premier geste de l'analyse en face du médicament, principe actif ou excipient, est de s'assurer de l'authenticité du produit qu'il a pour mission de le contrôler. L'identification peut dans certains cas être un critère de pureté. Parmi les méthodes d'identification on peut citer :

Le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, la réaction de coloration, les méthodes spectrales (UV, IR), l'identification chromatographique, vérification de l'absence des substances indésirables (recherche des métaux lourds). (Albert et al., 1974).

I.3.3.2. Le contrôle microbiologique

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué. De plus les contrôles doivent permettre de minimiser les pertes dues à des mauvaises conditions de fabrication et enfin un bon rendement. (Scriban, 1999).

➤ Détermination de la charge microbienne

Les préparations pharmaceutiques destinées à la voie orale (gélules ou autres) sont des préparations non obligatoirement stériles au terme de la pharmacopée européenne 2008 (la présence de certains nombre de germes est tolérable). (P.E, 2008).



Leur contrôle microbiologique consiste aux :

- Dénombrement des germes aérobies viables totaux (GAVT).
- Dénombrement des levures et moisissures (L.M).
- Recherche et dénombrement des entérobactéries.
- Recherche d'*E. coli* : doit être absente.
- Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* : doit être absent
- Recherche de *salmonelle* : doit être absente.
- Recherche de *Staphylococcus aureus* : doit être absent.

➤ **Titration microbiologique des antibiotiques**

Il est spécifique aux antibiotiques pour la détermination de l'activité d'antibiotique. Ce dernier est estimé par comparaison de l'inhibition de la croissance des microorganismes sensibles provoqués respectivement par des concentrations connues de l'antibiotique à examiner et d'une substance de référence. (P.E, 2008).

Il existe deux méthodes pour la détermination du titre microbiologique : titrage par diffusion et titrage turbidimétrique. (P.E, 2008).

I.3.3.3.Le contrôle toxicologique

Le but de ce contrôle, est de mettre en évidence les altérations fonctionnelles ou anatomopathologiques consécutives à l'administration du principe actif et les organes cibles, Sur lesquels s'exerce la toxicité. (Pradeau, 1992).

I.3.3.4.Le contrôle en cours de fabrication

Ce contrôle est effectué au cours de la fabrication d'un médicament en vue de surveiller, si nécessaire et d'ajuster le processus afin de s'assurer que le produit est conforme à des points critiques pour éviter d'engager inopportunément des frais coûteux dans la suite des opérations. (Le Hir, 2002).

I. Généralités sur les antibiotiques

I.1. Historique

Historiquement, une véritable révolution des antibiotiques commença en 1929, lorsque FLEMMING fit cette observation apparemment anodine sur une boîte de pétriensemencée avec des staphylocoques, la présence de quelques colonies massive du genre pénicillium, un contaminant, provoque une inhibition de la croissance des bactéries mises en culture.

La découverte de FLEMMING serait probablement tombée dans l'oubli, c'est en 1939 deux chercheurs britanniques FLORY et CHAIN n'avaient pas entrepris d'extraire et purifier la pénicilline sur une grande échelle à des fins d'essai thérapeutique, cependant les premiers résultats cliniques n'ont été publiés que vers 1941.

A partir de 1939 jusqu'à 1959 des centaines d'antibiotiques ont été isolés, sélectionnés soumis aux essais thérapeutiques. Depuis 1965, une nouvelle période semble prolonger cette époque glorieuse, elle est caractérisée par les antibiotiques semi-synthétiques en particulier les β -lactamines (Leclerc et al., 1983).

I.2. Définition d'un antibiotique

On appelle antibiotique toute substance élaborée par un micro-organisme capable de tuer ou d'inhiber la multiplication d'autres micro-organismes. Cette définition peut être étendue aux produits obtenus par synthèse ou héli-synthèse et doués d'une de ces propriétés. (Talbert et al., 2006)

I.3. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en différentes catégories selon plusieurs critères :

I.3.1. D'après leurs origines

Selon Vangansen, 1984, Les antibiotiques peuvent être produits soit par :

- Bactérie.
- Champignon

I.3.2. D'après leurs mécanismes d'action

D'après Neuman, 1979, Les antibiotiques sont soit :

- Bactériostatiques
- Bactéricides
- Fongistatiques
- Fongicides.

I.3.3. D'après leurs propriétés physicochimiques

Selon Neuman, 1979, nous avons 3 caractères :

- Antibiotiques de caractère acide.
- Antibiotiques de caractère basique.



- Antibiotiques de caractère amphotère.

I.3.4. D'après leur spectre d'action

En vertu de **Charpentier et al., 1998**, le spectre d'action d'un antibiotique correspond à l'ensemble des germes sur lesquels l'antibiotique exerce ses activités bactériostatiques ou bactéricides, il peut être étroit, spécifiquement moyen, large ou très large.

I.3.5. D'après leur composition chimique

D'après **Vangansen, 1984**, les antibiotiques sont des molécules organiques dérivées soient :

- D'un seul acide aminé.
- De deux acides aminés condensés dans de nouveaux noyaux.
- Peptides cycliques.
- Peptides à cycle lactonique.
- Aminosides.
- Macrolides.
- Complexes glyco-protéiques.
- Dérivés de l'acétate.
- Stéroïdes.

I.3.6. D'après leur type d'activité

Selon **Neuman, 1979** :

- Antibiotique anti-gram(-).
- Antibiotique anti-gram (+).
- Antibiotique à action locale.
- Antigonococcique.
- Antifongiques.

I.4. les grandes familles des antibiotiques

Les principales familles sont exprimées dans le tableau III :



Tableau III : les grandes familles d'antibiotiques(Talbert et al., 2006)

BETALACTAMINES
Pénicillines (pénames) : <ul style="list-style-type: none">• Groupe G• Groupe M (groupe de la méticilline) (antistaphylococciques)• Groupe A (groupe de l'ampicilline) (aminopénicilline)• Carboxypénicillines• Uréidopénicillines• Amidinopénicillines
Pénèmes (carbapénèmes) : Imipénème
Céphalosporines (céphèmes) : <ul style="list-style-type: none">• 1^{re} génération (C1G)• 2^e génération (C2G)• 3^e génération (C3G)• Céphalosporine à très large spectre
Monobactames : Aztréonam
Inhibiteurs irréversibles des bêtalactamases (en association) : <ul style="list-style-type: none">• Acide clavulanique• Sulbactam• Tazobactam
AMINOSIDES (aminoglycosides)
CHLORAMPHENICOL et dérivés
CYCLINES <ul style="list-style-type: none">• 1^{re} génération• 2^e génération
MACROLIDES <ul style="list-style-type: none">• Macrolides vrais• Macrolides apparentés (lincosanides et synergistines)
POLYPEPTIDES (polymyxines)
QUINOLONES <ul style="list-style-type: none">• 1^{re} génération (quinolones urinaires et génitales)• 2^e génération (fluoroquinolones systémiques)
SULFAMIDES , IMIDAZOLES.



I.5. Mécanisme d'action

À un site d'action spécifique situé dans les structures bactériennes, les antibiotiques peuvent réagir. Les quatre cibles principales sont (Talbert et al., 2006):

- La paroi : inhibition de synthèse de la paroi bactérienne (ex : pénicillines) ;
- La membrane cytoplasmique (ex : polymyxines) ;
- Le chromosome (ex : quinolones) ;
- Le ribosome (ex : tétracyclines, aminosides, macrolides).

I.6. Modalité d'utilisation

I.6.1.1. Monothérapie

La plupart des infections devraient être traitées en monothérapie que ce soit à spectre étroit ou large, elle possède de nombreuses indications en pratique de ville ou à l'hôpital (Perlemuter et al., 2000).

- L'infection broncho-pulmonaires acquises en ville
- Pyélonéphrites
- Méningites bactériennes à germe défini
- Infections urinaires non compliqués

I.6.1.2. Voie d'administration

Selon Perlemuter et al., 2000, la sélection de la voie d'administration elle dépend :

- De la disponibilité des formes pharmaceutiques ;
- De l'urgence (IV, IM) ;
- De la nature du site d'infection (voie pour les infections de l'os, méninges ou cardio-vasculaires).
- De la possibilité d'emploi de la voie orale (vomissement, troubles de conscience, ... etc.).

L'administration locale in situ d'antibiotique est exceptionnelle, habituellement, la diffusion par voie générale après absorption digestive ou injection est la seule préconisée.

***La voie intraveineuse :** elle est utilisée en cas d'infection sévère.

***La voie orale :** c'est la voie des infections peu sévères ou le relais de la voie IV

***La voie intramusculaire :** ne se conçoit que pour des antibiotiques à très longue durée d'action nécessitant qu'un faible nombre d'infections.

***La voie rectal :** parfois utilisée en pédiatrie (spiromycine) tends à être abandonné. (Bergogne ; Dellamonica ,1999).



I.7. Les aminosides ou aminoglycosides

I.7.1. Définition

Antibiotiques à large spectre d'action, leur activité est optimale à pH alcalin et inhibée en milieu acide. Leur poids moléculaire moyen de 500 à 800 daltons les rend aisément dialysables (Cohen, 1997).

I.7.2. Structure chimique des aminosides

Les aminoglycosides sont des molécules polaires et poly cationiques. Leur structure de base commune comporte un aminocycléthole (cycle à 6 chaînons avec des groupements amines), auquel se lient par des ponts glycosidiques deux ou exceptionnellement trois (dans la néomycine) hexoses. (Tulkens et al., 2002).

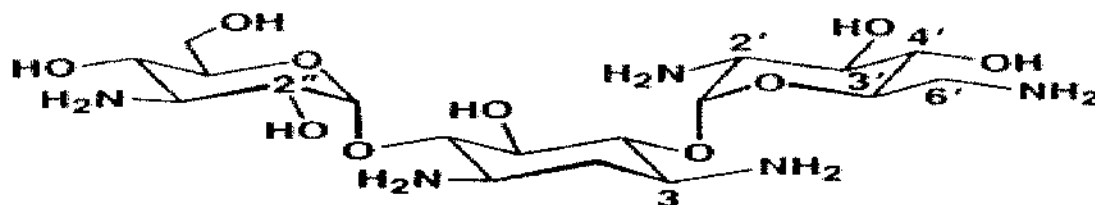


Figure 3 : Structure chimique des aminosides (Lullmann et al, 1996).

I.7.3. Propriétés physicochimiques

Les aminosides ont un noyau hexose, quel que soit la streptidine (dans la streptomycine) ou la deoxy-2-streptamine (dans d'autres aminoglycosides), auquel différents sucres aminés sont attachés par des liaisons glycosidiques. Ils sont solubles dans l'eau, stables en solution, et plus active en milieu alcalin par rapport à un pH acide. (Katzung et al., 2012)

I.7.4. Classification des aminosides

Les aminosides commercialisés sont soit des molécules naturelles, extraites de *Streptomyces*, de *Bacillus*, ou de *Micromonospora*, soit pour les plus récents d'entre eux, des produits semi synthétique (tableau IV) (Page et al., 1999).



Tableau IV :Aminosides actuellement disponibles.(Page et al., 1999).

Antibiotiques	Voies d'administration	Origine : Naturelle ou Synthétique	Utilisation thérapeutique
Streptomycine	Intramusculaire (intraveineuse)	Naturelle	Indiqué dans la tuberculose, la peste, la brucellose sévère pour certains <i>entérocoques</i> résistant à la gentamicine.
Néomycine	Voie orale	Naturelle	Employé pour diminuer la charge intestinale en entérobactéries dans l'encéphalopathie hépatique.
Paromomycine	Voie orale	Naturelle	Contre certains protozoaires Intestinaux.
Kanamycine		Naturelle	Rarement utilisé, par suite de résistance bactérienne.
Gentamicine		Naturelle	Le plus utilisé des aminosides, prescrire contre les <i>entérobactéries</i> , <i>pseudomonasaeruginosa</i> , les <i>entérocoques</i> .
Netilmicine	Intramusculaire (intraveineuse)	Synthétique	Effet similaire à celui de la gentamicine contre les <i>entérobactéries</i> et <i>P. aeruginosa</i> .
Tobramycine		Naturelle	Effet similaire à celui de la gentamicine contre les <i>entérobactéries</i> ; plus active que la gentamicine contre <i>P.aeruginosa</i> Bonne activité contre les entérobactéries et <i>P.aeruginosa</i> ; le plus actif sur les <i>mycobactéries</i> ; c'est l'aminoside le plus cher.
Amikacine		Synthétique	

I.8. La gentamicine

I.8.1. Définition

La gentamicine est un antibiotique qui appartient à la famille des aminosides, il est isolé de *Micromonospora purpurea*. Il est efficace contre les bactéries Gram positive et Gram négative. La gentamicine a des propriétés identiques aux autres aminoglycosides. (Katzung et al., 2012)

La gentamicine est commercialisée sous des normes de marque très diverse : Gentalline, Gentogram, Gentamicine Dacotapharm ou panapharma, mais aussi sous des dosages variés, (Moulin, 1998).

I.8.2. Origine biologique

La gentamicine sulfate est en fait un mélange de plusieurs ATB voisins, extrait de culture de *Microspora purpurea* (laboratoire SCHERING en 1964), elle forme avec la Streptomycine, la kanamycine la classe chimique des aminosides. (Moulin, 1997).

I.8.3. Structure chimique

La gentamicine est un composé de trois molécules (C1, C2, et C1a). Chaque molécule de gentamicine est un hétéroside de la desoxy-2- streptamine (unité II) avec deux sucres aminés :

*un aminopyranose (unité III)

*un aminosucre de structure variable mono ou diamine (unité I)

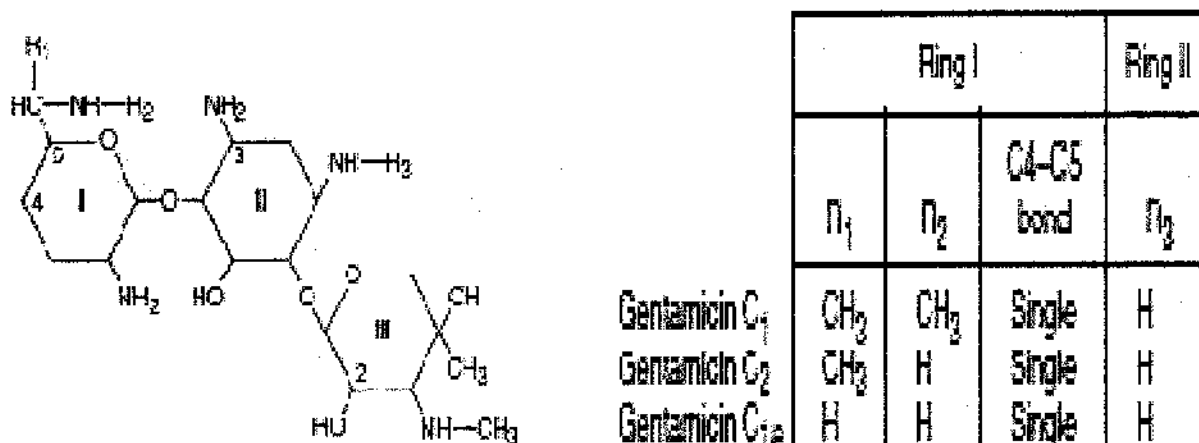


Figure 4 : Structure chimique de la Gentamicine. (Katzung et al., 2012).

I.8.4. Compositions

Comme tout médicament la gentamicine sulfate est composée de :

***Principe actif :**

Il est constitué de trois molécules de bases qui sont gentamicine C₁, C₂, C_{1a}.

***Les excipients :**

Pour le produit d'origine (*SCHERING*) :

- Parahydroxybenzoate de méthyle.
- Parahydroxybenzoate de propyle.
- Disulfite de sodium.
- Édétate de sodium.
- L'eau pour préparations injectables.

Pour le produit générique (*SAIDAL*)

- Métabisulfite de sodium.
- Édétate de sodium.
- Citrate de sodium.
- Acide citrique.
- L'eau pour préparation injectable.

I.8.5. Propriétés physico-chimique

La Gentamicine sulfate (GS) hérissés de fonctions azotées et hydroxylées sont nettement hydrophiles. La présence de groupes amine secondaire donne les propriétés basique (pKa compris entre 7,2 et 8,2), les sulfates sont très stables même à chaud et en solution à pH neutre, cette stabilité se trouve au niveau biologique en absence des métabolismes. (**Bergogne et Brogard, 1999**).

I.8.6. Posologie et mode d'administration

La posologie et le mode d'administration de certains génériques de la gentamicine sont résumés dans le tableau V.



Tableau V : posologie et mode d'administration des génériques de la gentamicine (Perlemuteret Perlmutter, 2001).

GENTAMICINE PANPHARAM.		
GENTAMICINE DOATA.		
EN : 1 à 3 inj.IM ou IV.	10 amp. 10 mg.	HOP
A : 3 à 5 mg/kg/j en 3 inj.	10 amp. 40 mg.	HOP
N : 1 à 1,5 mg/kg/j en 3 inj.	10 amp. 80 mg.	HOP
NN : 2 à 3 mg/kg/j en 3 inj.	10 amp. 160 mg.	HOP
GENTAMICINE LEURQUIN		
EN : 1 à 3 inj.IM ou IV	1 amp. 20 mg.	NR
A : 3 à 5 mg/kg/j en 3 inj.	1 amp. 40 mg.	NR
N : 1 à 1,5 mg/kg/j en 3 inj.	1 amp. 80 mg.	NR
NN : 2 à 3 mg/kg/j en 3 inj.		
GENTABILLE.		
Pour usage chirurgical.	30 unités/sach.	HOP
	60 unités/sach.	HOP

I.8.7. Résistance

Les Streptocoques et les entérocoques sont relativement résistants à la gentamicine en raison de l'échec du médicament à pénétrer dans la cellule. Cependant, la gentamicine en combinaison avec la vancomycine ou pénicilline produit un effet bactéricide puissant, qui est en partie due à une meilleure absorption du médicament qui se produit avec l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire. La résistance à la gentamicine se dégage rapidement en cours de staphylocoques monothérapie en raison de la sélection de mutants de perméabilité. La résistance ribosomique est rare. Parmi les bactéries gram-négatif, la résistance est le plus souvent due à des enzymes de modification plasmidiques des aminoglycosides. Les bactéries Gram-négatives qui sont généralement résistantes à la gentamicine sont sensibles à l'amikacine, qui est beaucoup plus résistant à modifier l'activité de l'enzyme. L'enzyme des entérocoques qui modifie la gentamicine est une enzyme bi-fonctionnelle qui inactive également amikacine, l'anétilmicine, la tobramycine mais non de la streptomycine ; ce dernier est modifié par une enzyme différente. C'est pourquoi certains entérocoques qui sont résistants à la gentamicine sont sensibles à la streptomycine. (Katzung et al., 2012)



I.8.8. Mécanisme d'action

Elle diffuse à travers les pores de la membrane externe puis interne de la bactérie grâce à un transport actif oxygénodépendant (phase1). Cette phase peut être bloquée ou inhibée par Ca^{++} , Mg^{++} , l'hyperosmolarité, une réduction de pH, l'anaérobiose.

Dans le cytoplasme la liaison aux polysomes (sous unités 30S, 50S) d'un ribosome entraîne une inhibition de la synthèse des protéines bactériennes (phase2 énergie dépendante), il en résulte l'apparition des protéines anormales qui ne sont pas fonctionnelles. (Schorderet, 1989).

I.8.9. Pharmacocinétique

➤ **Absorption :**

La présence de nombreux groupes OH et NH_2 donne le caractère hydrophile à la gentamicine ce qui rend l'absorption digestive de ces composés très difficiles ; elle est de se fait employée exclusivement par voie parentérale lors d'une infection systémique. Leur emploi par voie orale est utile lors d'infection intestinale (Kirkia, 1996).

➤ **Distribution :**

La gentamicine a une bonne diffusion dans les tissus, les séreuses à l'exception du liquide céphalo-rachidien, le placenta, le liquide amniotique. Sa concentration est importante dans le parenchyme rénal et particulièrement dans la corticale et elle passe dans le lait. (Schorderet, 1989)

➤ **Demi-vie :**

Le pic sérique après les doses thérapeutiques (40-80 mg) atteint 4 à 6 mg/ml et descend progressivement pour être environ 0,6 mg/ml après 6h, leur demi-vie plasmatique est d'environ 2 à 3h. Le pourcentage de liaison sur les protéines plasmatiques est faible 10-20% (Neuman, 1979).

I.8.10. Elimination

Il existe deux types d'élimination

I.8.10.1. Voie rénale



Elimination urinaire par filtration glomérulaire dans les deux premiers jours de prise, il existe un retard d'élimination (environ 40% de la dose quotidienne sont éliminés), puis dans les jours suivants la fraction de la dose quotidienne éliminée augmente, pour atteindre environ 90% au bout d'une semaine. **(Duval et Soussy, 1980).**

I.8.10.2. Voie biliaire

Faible élimination, mais l'acidité est augmentée par l'alcalinité de la bile. **(Duval et Soussy, 1980).**

I.8.10.11. Spectre d'action

La GS entre, 2-10 mg / ml, inhibe in vitro de nombreuses souches des *staphylocoques* et des *coliformes* et d'autres bactéries gram-négatives. il est actif seul, mais aussi comme un compagnon synergique avec les β -lactames contre *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, et d'autres bactéries gram-négatif des tiges qui peuvent être résistants à de multiples autres antibiotiques. Comme tous les aminoglycosides, il n'a pas d'activité sur les anaérobies. **(Katzung et al., 2012)**

I.8.12. Indications cliniques

A. Administration intramusculaire ou intraveineuse

La gentamicine est principalement utilisé dans les infections graves (par exemple, la septicémie et pneumonie) causée par des bactéries gram-négatives qui sont susceptibles d'être résistant à d'autres médicaments, en particulier *P. aeruginosa*, *Enterobacter sp.*, *Serratia marcescens*, *Proteus sp.*, *Acinetobacter*, *Klebsiella sp.* ... Il est généralement utilisé en combinaison avec un second agent, car un aminoglycoside seul peut ne pas être efficace pour les infections à l'extérieur l'appareil urinaire. Par exemple, la gentamicine ne doit pas être utilisée en tant que seul agent pour traiter les infections à staphylocoques parce que la résistance se développe rapidement. **(Katzung et al., 2012).**

B. Administration topique et oculaire

Les crèmes, les pommades, et les solutions contenant 0,1 à 0,3% de GS ont été utilisés pour le traitement des brûlures infectées, plaies ou de lésions de la peau et dans les tentatives pour empêcher les intraveineuses infections du cathéter. L'efficacité des préparations topiques pour ces indications ne sont pas claires. Dix mg peuvent être injectés sous la conjonctive pour le traitement d'infections oculaires. **(Katzung et al., 2012).**



C. Administration intrathécale

La méningite causée par des bactéries gram-négatives ont été traitées par l'injection intrathécale de sulfate de gentamicine, de 1 à 10 mg / j. Cependant, la gentamicine intraventriculaire intrathécale était bénéfique dans les nouveau-nés atteints de méningite, et intraventriculaire gentamicine était toxique, soulevant des questions sur l'utilité de cette forme de thérapie. En outre, la disponibilité de la troisième génération céphalosporines Gram négatif méningite a rendu ce traitement obsolète dans la plupart des cas. (Katzung et al., 2012)

*Chapitre II : Matériel
et Méthodes*

Une étude analytique et comparative entre un médicament générique (Gentamine) produit à SAIDAL et son équivalent de spécialité (Gentalline) fabriqué par une firme française SCHERING a été réalisée au niveau des laboratoires de contrôle de qualité situés dans la filiale ANTIBIOTICAL du groupe SAIDAL à Médéa. Cette filiale est dotée de toutes les installations nécessaires à la production d'antibiotiques pénicilliniques et non pénicilliniques. Une demande d'autorisation a été donnée au responsable. Ce travail a été effectué durant un mois allant du 2 mars 2014 jusqu'à 2 avril 2014.

II. Matériel et méthodes

Durant notre étude nous avons utilisé deux types de matériels :

II.1. Matériel non biologique

- **Appareils et équipement** : les appareils et les équipements utilisés dans cette étude sont indiqués en annexe 2.
- **Verreries et consommables** : les verreries et les consommables employés durant notre étude sont mentionnés en annexe 2.
- **Réactifs et Produits chimiques utilisés** : (voir annexe 2)
- **Milieus de culture** : (voir annexe 4)

II.2. Matériel biologique

- **La souche** : *Staphylococcus épidermidis* est un membre du genre staphylocoque (cocci), Gram positifs (voir annexe 2).

II.3. Echantillons contrôlés

Dans cette étude, nous avons fait un contrôle physico-chimique, microbiologique et toxicologique de la matière première ainsi que pour les deux produits finis (Gentamine, Gentalline).

a) Matière première

Gentamicine sulfate:

Matière première sous forme de poudre blanche importée de l'Inde. la composition est dans (annexes 1)

b) Produits finis

Nous avons comparé deux produits finis : Gentamine (un médicament générique) et son princeps Gentalline. La dose et la forme pharmaceutique de ces deux produits est représentée dans le tableau VI



Tableau VI : La dose et la forme pharmaceutique

Produits finis	D.C.I	Forme pharmaceutique	Dose	D.F	D.P
GENTAMINE	Gentamicine de sulfate	Solution inj(IV,IM)	80mg/2ml	05/2012	05/2015
GENTALLINE	Gentamicine de sulfate	Solution inj(IV,IM)	80mg/2ml	05/2013	05/2016

II.1. Méthodes


Dans notre étude, nous avons effectué un contrôle physico-chimique, microbiologique et toxicologique de la matière première et des produits finis assuré par des séries d'analyses qui nous ont permis d'apprécier la qualité et la conformité, et de comparer ces produits en respectant les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (P.E, 2008) et Américaine USP2008.

II.1.1. Echantillonnage

L'échantillonnage de la matière première a été effectué dans des conditions stériles, sous hotte à flux laminaire, selon les règles du MILITARY Standard établis et reportés dans toutes les pharmacopées qui consistent à évaluer la taille du lot de prélèvement (nombre de récipients et quantité de matière) de manière représentative selon le tableau VII, afin d'assurer la fiabilité du résultat.

Tableau VII :L'échantillonnage selon les règles du MILITARY standard.

Nombre de récipients constituant un lot	Nombre de récipients à prélever
N° :1	01
N° :2-4	02
N° :5-9	03
N° :10-16	04
N° :17-25	05
N° :26-36	06
N° :37-49	07
N° :50-64	08
N° :65-81	09
N° :82-100	10



Notre prélèvement de la matière première a été réalisé à partir d'un lot.

L'échantillon récupéré est réparti dans des flacons en verre stériles.

En ce qui concerne les produits finis ; l'échantillonnage de la Gentamine s'effectue sur différents niveaux de conditionnement, cependant la GENTALLINE de comparaison d'origine Française.

II.1.2. Protocole expérimental

Les étapes de notre expérimentation se résument dans le protocole suivant :



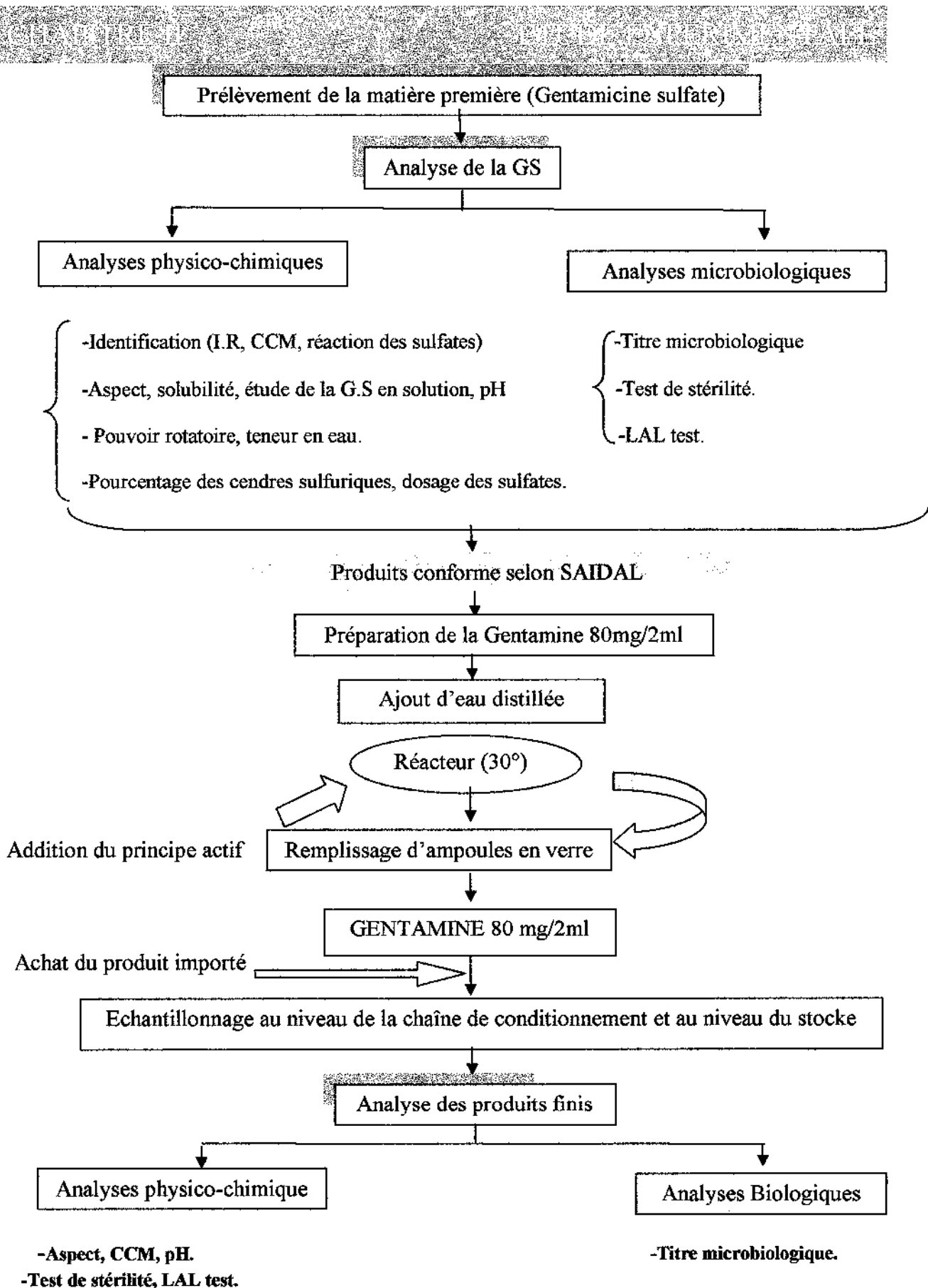


Figure 5 :Schéma du Protocol expérimental

II.2.3. Analyses physico-chimiques de la matière première GENTAMICINE SULFATE (GS)

Nous avons réalisé le contrôle physico-chimique de la matière première pour nous assurer que notre échantillon est conforme aux normes.

Les procédures utilisées et les normes à suivre, concernant cette partie de contrôle sont inspirées à partir de la P.E, 2008, tel que pratiquée au niveau de l'unité ANTIBIOTICAL, lieu de notre expérimentation.

II.2.3.1. Identification et caractérisation de la GS

L'identification est une étape importante, qui consiste à analyser la matière première par spectroscopie IR, chromatographie sur couche mince et par la réaction des sulfates.

II.2.3.1.1. Identification par spectroscopie IR

***Principe**

Les molécules qui absorbent la lumière IR doivent avoir des liaisons polarisées. Cette technique est basée sur des interactions entre la matière et le rayonnement électromagnétique, l'enregistrement de la longueur d'onde constitue le spectre d'adsorption du composé dans la région spectrale étudiée, il permet de déterminer les groupements fonctionnelles du produit (USP, 2008)

Nous avons utilisé la technique de bromure de potassium (KBR) qui est un support inerte

***Mode opératoire :**

Nous avons pulvérisé 1 à 5mg de substance et environ 300mg de KBR dans un mortier en agate. Le mélange obtenu est pressé à haute pression sous vide pour l'obtention d'une pastille. Cette pastille est fixée devant le faisceau de spectrophotomètre IR PU9714 (Phillips).

Les spectres sont enregistrés et identifiés par rapport au standard de référence

II.2.3.1.2. Identification de la matière première par chromatographie couche mince (CCM)

***Principe**

CCM est une technique de séparation dans laquelle une phase stationnaire, constituée d'un matériau approprié, est répandue en une couche mince et uniforme sur un support (plaque) de verre ou de plastique. Les solutions à analyser sont appliquées sur un bord de la plaque. La séparation repose sur les mécanismes et elle s'effectue par migration des solutés à travers la couche mince (phase stationnaire) dans un solvant ou un mélange de solvants approprié (phase mobile) à travers la couche mince (P.E, 2008).

*Mode opératoire

-Utiliser une plaque en verre de gel de silice comme phase stationnaire, elle est constituée du mélange suivant :

-Mélanger des volumes égaux d'hydroxyde d'ammonium, chloroforme et de méthanol (le solvant est mélangé puis laissé à décanter, puis on prend la phase inférieure comme phase mobile).

-A l'aide d'une micropipette on dispose séparément sur la plaque dans l'ordre suivant :

Volume de la solution standard préparé comme suit :

-Dissoudre 0.1mg de la gentamicine sulfate standard dans un volume équivalent à celui de la solution injectable (utilisé 2ml).

-Lorsque le solvant de la solution déposée est évaporé, placer la plaque en position aussi verticale que possible, dans la cuve chromatographique.

-Retirer la plaque de la cuve de migration.

-Sécher à l'air libre : vaporiser ensuite une solution de ninhydrine R (**voir annexe3**), on chauffe à 15C° pendant 3minutes.

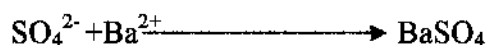
*Lecture

✓ les spots résultants du produit sont comparés et identifiés par rapport au standard.

II.2.3.1.3. Réaction des sulfates

*Principe

Dans un milieu acide, la réaction entre les sulfates et le chlorure de baryum donne un précipité blanc qui est le sulfate de baryum (**P.E,2008**).



*Mode opératoire

- Dissoudre environ 45mg de matière première dans 5ml d'eau distillée.
- Ajouter 1ml d'acide chlorhydrique dilué (1N) et 1ml de chlorure de baryum

*Lecture

- ✓ Réaction positive : formation d'un précipité blanc
- ✓ Réaction négative : absence de précipité.

II.3.3.2. Aspect et couleur

Ce test s'effectue par une simple analyse visuelle. Selon la spécification du dossier pharmaceutique, la G.S est sous forme de poudre blanche



II.2.3.3. Solubilité

*Principe :

La solubilité est la capacité d'une substance à être mise en solution et être dissoute pour obtenir un liquide homogène (P.E,2008).

*Mode opératoire :

Solubilité dans l'eau :

-Mettre 1g de GS, puis ajouter 10 ml d'eau distillée.

Solubilité dans l'alcool :

-Mettre 1g de GS, puis ajouter 100ml d'alcool éthylique 96°

*Lecture :

- ✓ Résultat positive : formation d'une solution limpide homogène.
- ✓ Résultat négative : formation d'une solution non limpide, hétérogène.

II.2.3.4. Etude de la GS en solution

*Préparation de la GS :

Dissoudre 0.8g de sulfate de gentamicine dans l'eau distillée et compléter à 20 ml avec le même solvant.

*Degré de coloration :

La GS en solution est comparée à une solution témoin A(voir annexe 03) pour la détermination du degré de coloration.

*Lecture :

- ✓ Résultat positif : l'échantillon est moins clair que la solution témoin A.
- ✓ Résultat négatif : l'échantillon est plus clair que la solution témoin A.

*Degré de limpidité et d'opalescence

La solution de la GS est comparée à une solution témoin B (voir annexe03).

*Lecture :

- ✓ Résultat positif : l'échantillon est moins trouble que la solution témoin B.
- ✓ Résultat négatif : l'échantillon est plus trouble que la solution témoin B



II.2.3.5. Détermination du pH

*Principe

Le pH d'une solution aqueuse est le cologarithme décimal de l'activité de la solution en ions hydrogène ou en ions hydronium. Sa détermination est effectuée par mesure de la différence de potentiel entre 2 électrode judicieusement choisies, plongeant dans la solution à examiner ; l'une d'elle est une électrode sensible aux ions hydrogène (le plus souvent, une électrode de verre) et l'autre une électrode de référence (par exemple, une électrode au calomel saturée) (P.E.,2008)

*Mode opératoire

- Rincer l'électrode avec de l'eau distillée.
- Étalonner l'appareil, puis rincer l'électrode une deuxième fois.
- Plonger l'électrode dans la solution à examiner (0.8g de la G.S dans 20ml d'eau distillée) et lire la valeur de pH sur l'écran.
- Rincer l'électrode, et la plonger dans la solution de garde (kcl)

II.2.3.6. Pouvoir rotatoire

*Principe

Le pouvoir rotatoire est la priorité que présentent certaines substances de dévier le plan de polarisation de la lumière polarisée.

Le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D^{20}$ d'une substance en solutions est défini par l'angle de rotation α , exprimé en degré du plan de polarisation ; déterminé à la raie D de sodium (longueur d'onde $\lambda = 589,3$ nm) à la température de 20°C (Merck,1999).

*Mode opératoire :

- Régler l'appareil sur la position 0 (solvant de gentamicine blanc).
- Dissoudre 1g de sulfate de Gentamicine dans l'eau distillée et compléter à 10ml avec le même solvant.
- Vider la cellule, la rincer avec l'eau distillée, la remplir avec la solution de la substance à examiner,
- Mettre la cellule en place et fermer le couvercle
- Attendre que l'appareil atteigne son équilibre
- Noter le volume du pouvoir rotatoire

*Expression des résultats :

$$PRS = \frac{[\alpha]}{C \times L} \times \frac{100}{100 - \%H_2O}$$

D'où

PRS: Pouvoir rotatoire spécifique ;

$[\alpha]$: Pouvoir rotatoire en degré (°) ;

L: la longueur de la cellule en cm ;

C: concentration de la solution en g/ml ;

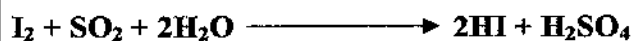
% H₂O : taux d'humidité, mesuré par la méthode K.F.

II.2.3.7.Teneur en eau par la méthode de KARL-FISHER

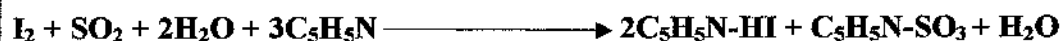
*Principe

La connaissance de la teneur en eau est essentielle pour l'évaluation des matières premières dans la recherche, la médecine, l'industrie pharmaceutique, l'industrie agroalimentaire, le bâtiment, etc. Elle influe sur les propriétés des produits telles que la stabilité et la conservation microbiologiques, la fluence et la consistance, les propriétés d'écoulement et la viscosité. Ainsi, les quantités d'eau présente dans les produits pharmaceutiques doivent être connues dans la mesure où la conservation, la stabilité, l'efficacité et la durée de la vie de ces derniers peuvent grandement dépendre de leur teneur en eau. Grâce à une réaction spécifique et sélective avec l'eau, le titrage Karl Fischer (KFT) est l'une des méthodes de détermination de l'eau les plus précises et les plus reproductibles.

Ce titre utilise le principe de l'oxydation du dioxyde de soufre (SO₂) par l'iode en présence d'eau (P.E, 2008).



L'eau dissout l'iode et SO₂ dans un solvant non aqueux (le méthanol). Cette réaction d'oxydoréduction s'effectue rapidement surtout si on associe une base à cette solution (la pyridine).



La teneur en eau est déterminée par un appareil de Karl Fischer qui est composé d'un dosimètre semi-automatique, d'une électrode et d'un godet (voir annexe 8).

*Mode opératoire

- L'appareil utilisé est le Karl Fischer automate ;
- Mettre l'appareil en marche ;
- Vérifier si la solution du support de dosage n'est pas saturée ;

- Neutraliser cette solution jusqu'à l'élimination totale des traces d'eau ;
- Peser 100,00 mg de la Gentamicine et les introduire dans le godet de dosage ;
- Noter le volume initial indiqué dans le cadran dosimètre (Dosimat) ;
- Appuyer sur le bouton ON du dosimètre, le dosage de l'eau se fera automatiquement.
- Attendre la fin du dosage automatique qui sera donnée par l'allumage du voyant-ON- en rouge
- Noter le volume final du dosage indiqué dans le cadran.

***Expression des résultats :**

$$\%H_2O = \frac{\Delta V}{P} \cdot f \cdot 100$$

D'où

ΔV : est le volume de réactif de KF consommé en ml ;

P : la prise d'essai de l'échantillon en mg ;

f : facteur du réactif de KF qui est égale à 1.7690mg/ml ;

II.2.3.8.Détermination du pourcentage des cendres sulfuriques

***Principe :**

La détermination du pourcentage(%) des cendres est effectuée selon un procédé chimique, dans lequel le composé est chauffé en dessous de son point de fusion dont le but est d'éliminer les constituants carboniques et de garder les éléments minéraux (P.E, 2008).

***Mode opératoire :**

Déterminer sur 0.50g de sulfate de Gentamicine, le taux des cendres qui ne doit pas excéder 1.0%

- Chauffer au rouge un creuset vide de platine pendant 30 min,
- Laisser refroidir dans un dessiccateur, puis faire la peser
- Mettre dans le creuset l'échantillon à analyser, et ajouter 2ml d'acide sulfurique dilué R.
- Chauffer au bain marie puis prudemment sur une flamme nue, en élevant progressivement la température $T^{\circ}=600C^{\circ}$, continuer l'incinération jusqu'à disparition des particules noires.
- Laisser refroidir dans le dessiccateur.
- ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique dilué R puis chauffer et incinerez comme précédemment
- Laisser refroidir
- Ajouter quelque goutte de carbonate d'ammonium.
- Evaporez le liquide et incinerez prudemment
- Laissez refroidir et pesez



- Recommencez l'incinération pour une période de 15min jusqu'au poids constant.

***Expression des résultats :**

Le pourcentage des cendres est évalué selon l'équation suivante :

$$\% \text{ du résidu} = \frac{P3 - P1}{P2} \times 100$$

P1 : Poids du creuset vide.

P2 : Prise d'essai.

P3 : Poids final du creuset.

Le % des cendres doit être inférieur à 1%

II.2.3.9. Dosage du Sulfate

Le test des sulfates permet de déterminer le pourcentage des sulfates dans la matière première.

***Mode opératoire**

- Dissoudre 1g de la matière première dans 200 ml d'eau distillée.
- Ajouter 3ml d'acide chlorhydrique.
- Chauffer à l'ébullition.
- Ajouter 15ml de solution chaude de chlorure de baryum.
- Chauffer au bain marie pendant quatre heures.
- Filtrer la solution.
- Incinérer le filtre dans un creuset en platine et peser ce dernier après incinération.

Chaque gramme de résidu est équivalent à 0.4116 g de SO_4^{2-}

***Expression des résultats :**

$$\% \text{ du sulfate} = (C + R) - C_v \times 0,4116 \times 100 \times \frac{100}{100 - \% \text{H}_2\text{O}}$$

-Le % du sulfate doit être limité entre 31-34% ;

-(C+R): creuset +résidu ;

-C_v: creuset vide ;



II.2.4. Analyses microbiologiques de la matière première

II.2.4.1. Test de stérilité

*Principe

La méthode utilisée est basée sur la filtration sur membrane, l'essai de stérilité est réalisé sous hotte à flux laminaire dans des conditions d'asepsie rigoureuse et dans une chambre stérile à l'aide d'une pompe de transfert millipore (USP, 2008).

Les solvants et les milieux de culture utilisés sont décrits(annexe 5).

*Mode opératoire :

- Dissoudre 6g ou bien aspirer 20 ampoules de la gentamicine sulfate dans un flacon contenant 400ml d'eau peptonée stérile. Additionnée de polysorbate80 (tween 80) pour une concentration 1% qui facilite la filtration, il occupe les pores du filtre pour former un film, il abaisse en même temps la tension superficielle et facilite la solubilité du produit.
La solution obtenue est transférée en parallèle (dans deux canisters puis filtrés à travers deux filtres à membrane (en esters de cellulose) , de porosité 0.45µm puis laver 3 fois avec 400ml d'eau peptonée stériles pour enlever les résidus d'antibiotiques incrustés dans les pores des filtres.
- A ce moment, on fait remplir un des canisters avec 90ml du milieuthioglycolate et l'autre avec 90ml de soja bouillon
- Incuber les milieux de culture pendant 14 jours à différente température :
- 20 C° à 25C° pour soja bouillon pour la recherche des levures et des moisissures et les germes aérobies.
- 30C° à 35C° pour thioglycolatebouillon pour la recherche des germes aéro-anaérobies facultatifs.

*Lecture

Examiner quotidiennement les milieux de culture pour déceler les signes macroscopiques d'une prolifération microbienne représentée par une turbidité du milieu.

- ✓ S'il n'y a aucune manifestation de croissance, le produit contrôlé satisfait à l'essai de stérilité.
- ✓ S'il existe une preuve de prolifération microbienne, le produit à examiner ne satisfait pas à l'essai, alors identifiez le germe contaminant et répéter l'essai.

Dans ce cas, faire l'isolement et l'identification du germe, pour démontrer que la prolifération microbienne observée dans les milieux utilisés n'est pas due à une contamination intrinsèque du produit examiné mais à une contamination au cours de la manipulation, des répétitions de l'essai de stérilité sont faites.



II.2.4.2. Test de fertilité (challenge test)

*Mode opératoire

A la fin de la période d'incubation et après la lecture des résultats il faut :

- Ensemencer les milieux de culture par des germes de référence aérobies et anaérobies ou bien une levure et moisissure qui doivent être sensible à l'antibiotique testé
- La quantité injectée doit être de 100UFC/ml environ
- Incuber le milieu au thioglycolate à 30-35C° pendant 48 heures pour les bactéries
- Incuber le milieu au bouillon de soja a 20-25C° pendant 48 heures pour les levures et moisissures(P.E, 2008)

*Lecture

L'essai de stérilité n'est pas valide si l'un ou les deux milieux de culture restent stériles (absence de croissance) au-delà de la 48 ème heure, car il y'a présence de substance à activité antimicrobienne qui n'a pas été éliminée, ce qui implique une répétition de l'essai en respectant les étapes de validation.

II.2.4.3. Test de Limulusamébocytes Lysat (LAL test)

*Méthode Gel Caillot-test LAL

Ce test permet de déterminer la présence des endotoxines dans les produits injectables.

*Définition

Endotoxines: les Endotoxines bactériennes sont des complexes de lipopolysaccharide produites par bactéries Gram négatif, détectées ou quantifiées au moyen d'un lysat d'amaébocytes de limulus(U.S.P, 2008) .

*Principe :

La présence de LimulusAmaébocyte Lysat avec les endotoxines entraine la formation des molécules de coaguline; ces derniers vont ségréguer pour former un gel.

Le mécanisme de coagulation du sang de limule (limuluspolyphémus-genre de crabe) en présence d'endotoxine fait suite à une série des réactions enzymatiques .Les facteurs C et G présents dans les amébocytes sont des facteurs initiateurs de la réaction et se lient respectivement avec les endotoxines et les (1-3) β -D glucose (composés de la paroi cellulaire).

L'étape limitant de la réaction est le seuil d'activation du facteur C par le lipopolysaccharides, ce seuil étant directement lié à la concentration d'endotoxine (U.S.P,2008)



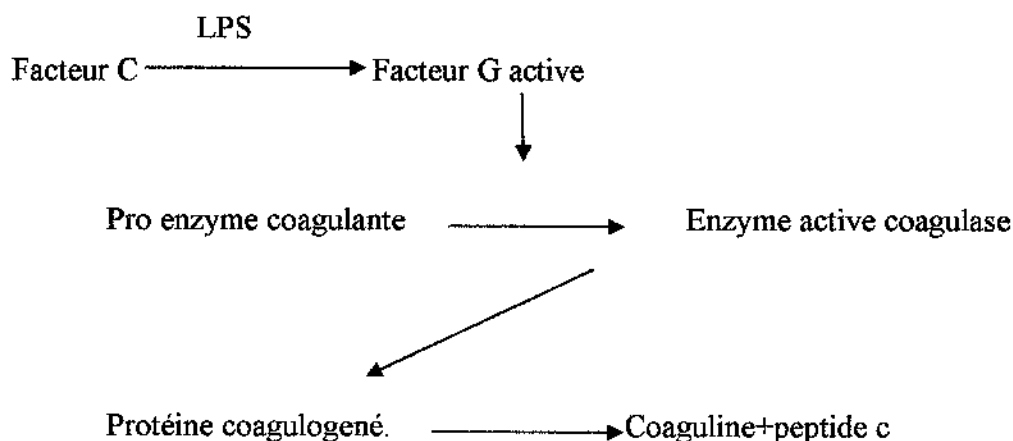


Figure 6 : Schéma de la cascade enzymatique de la réaction (LAL-LPS). (P.E, 2008)

***Mode opératoire**

***Reconstitution du réactif**

Le lysat: après avoir sorti le réactif lyophilisé de la congélation, on le solubilise dans 1.8ml d'eau (c'est une eau de qualité : tri distillée et filtrée) eau LAL, on le laisse reposer quelques minutes à température ambiante, on peut agiter faiblement si nécessaire pour homogénéiser la solution.

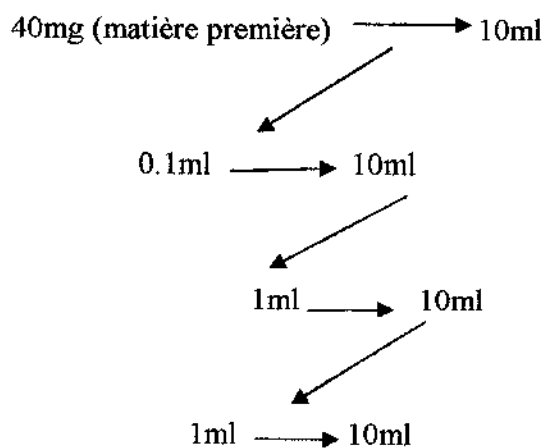
L'endotoxine: nous reconstituons le réactif d'endotoxine ajoutant 5ml d'eau LAL à l'aide d'une pipette en verre sur l'endotoxine lyophilisé.

A l'aide d'un vortex nous agitons notre solution pendant une minute : la solution obtenue est appelée solution mère d'endotoxine.

***L'essai de lysat**

Préparation de l'échantillon : les solutions examinées sont obtenues à partir de différentes dilutions, exprimées au-dessous :

Les dilutions :



- Dans un tube apyrogène (75x 10 mm) (Prélever 0.1ml de la dernière dilution additionnée a 0.1ml de réactif reconstituée (lysate) immédiatement après addition du lysat a la solution testée il est important de ne pas utiliser le vortex, mais bien mélanger pour ne pas obtenir des résultats faussement positif.
- Pour le témoin mélanger 0.1ml de l'endotoxine avec 0.1ml de réactif.
- Fermer les tubes avec des feuilles d'aluminium apyrogènes.
- Incuber les tubes débouchés dans un bain sec a température (37c°) pendant une heure, on signale que durant l'incubation il ne doit y'avoir aucune agitation ni vibration

***Lecture :**

- ✓ La lecture est effectuée après une incubation de 1heure à 37C°.
- ✓ Formation de gel : résultat positif (présence d'endotoxines).
- ✓ Pas de formation de gel : résultat négatif (absence d'endotoxines).

NB : Un gel positif est un gel qui reste solide dans le fond du tube quand le tube est retourné à 180°.

II.2.4.5. Titre microbiologique

Principe :

Le principe de cette technique consiste à comparer sur une culture bacterienne donné, l'action inhibitrice à doses connues de l'antibiotique à examiner avec celle de la substance étalon.

Selon la (P.E,2008), la méthode utilisée pour la détermination de l'activité d'antibiotique est la technique des disques la plus couramment utilisée : un disque de papier buvard imprégné d'antibiotique et déposer sur une gélose, l'antibiotique diffuse et inhibe le développement du germe dans un cercle concentrique du disque, le diamètre du cercle est en fonction de la sensibilité de ce germe a l'antibiotique (9mm de diamètre).(Boudia et Cheboub,1993).

***Mode opératoire**

- Souche utilisé : *Staphylococcus epidermidis* 0.03%.(P.E,2008)
- Milieux de base : milieu N°11(21ml par boites).
- Milieux de semence : N°11 (4ml par boite).
- Solvant utilisé : tampon A pH=8

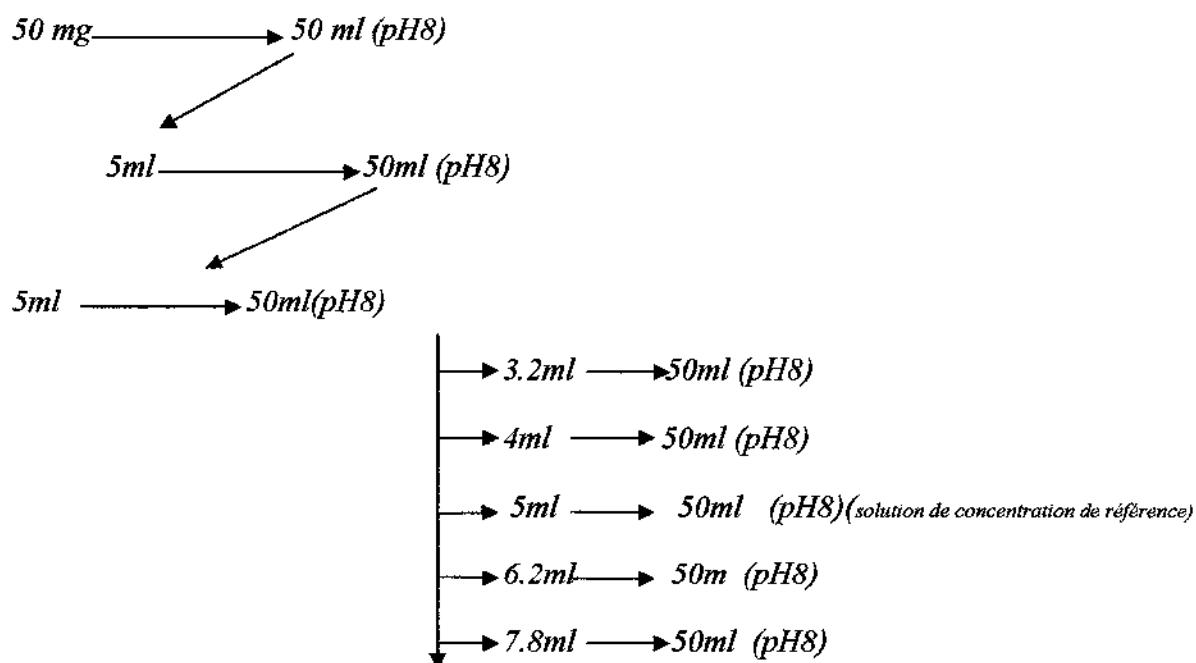
Le milieu de culture et le tampon sont décrits dans (annexe 4)

***Préparation de la gamme des dilutions d'antibiotiques :**



*Préparation du standard de la gentamicine sulfate :

Les dilutions se présentent dans le diagramme suivant :



-Sécher une quantité de la GS a 110C° pendant 03heures.

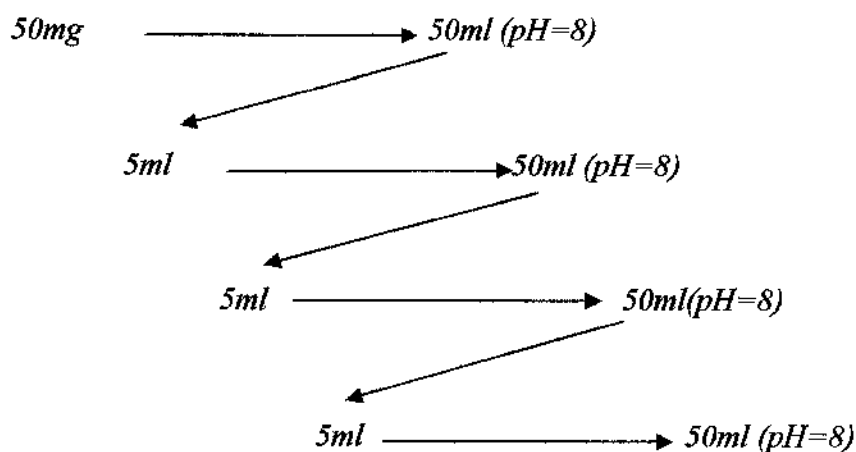
-Prélever exactement 50mg de la matière première séchée dans 50ml du tampon A (**voir annexe4**) pour l'obtention d'une solution à une concentration de 50000ug/ml

-Diluer cette solution jusqu'à une dilution de 10⁻²

-A partir de la dilution 10⁻²prélever respectivement : 3.2,4,5,6.2,7.8 ml et les réparties dans des fioles.

-Ajuster avec le tampon A à 50ml pour l'obtention respective des concentrations 0.64,0.80,1.00, 1.24,1.56 µg/ml.

*Préparation de la gamme gentamicine sulfate



***Préparation de l'échantillon**

***Préparation de la solution (la souche en suspension)**

La souche se présente sous forme de pastille, cette dernière est dissoute dans un milieu d'enrichissement bouillon de soja (BL).

-Incuber pendant 18h-24h à 37°C

-Après incubation ensemencer une goutte sur le milieu d'isolement (milieu N°11) et on l'incube à 37°C pendant 18h-24h.

-Après incubation, ajouter de l'eau physiologique au milieu puis on prélève 2ml de la suspension.

-Ensemencer le volume prélevé dans une bouteille de culture, contenant le milieu N11 et des billes en verre. Agiter la préparation.

-Après incubation (à 37°C pendant 18h-24h) injecter 25ml d'eau physiologique dans la bouteille puis récupérer les 25ml additionnés.

Ce dernier volume prélevé constitue la solution mère qu'on utilise pour la préparation des dilutions.

***Préparation des boîtes de pétri**

****Préparation de la couche de base :** verser 21ml du milieu de base N°11 sur chaque boîte de pétri (20×100mm) et laisser se solidifier.

****Préparation de la couche de semence :** ajouté un volume de 4ml d'inoculum de la suspension de germe d'essai à une quantité suffisante (250ml) d'agar fondue et refroidie à - 45°C.

- mélanger soigneusement pour avoir une suspension homogène et laisser se solidifier.

***Procédure de l'essai**

Pour le standard, utiliser 12 boîtes de pétri au totale pour la courbe d'étalonnage a raison de trois boîtes pour chaque point de concentration de la courbe, sauf la solution de concentration de référence.

- Inclure dans chaque boîte 6 disques (9mm de diamètre) : 3 imbibés de la solution de la concentration de référence et 3 imbibés de chaque dilution.

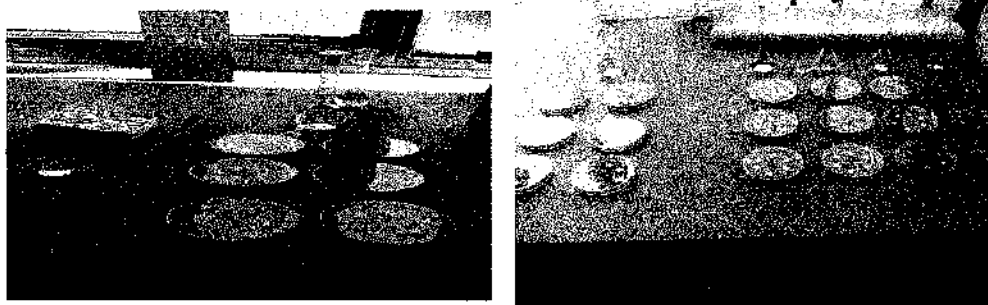
Les disques sont disposés en alternance (**voir figure7**).

- Nous aurons ainsi 36 zones claires d'inhibition de la concentration de référence et 9 zones claires d'inhibition de chacune des quatre autres concentrations.

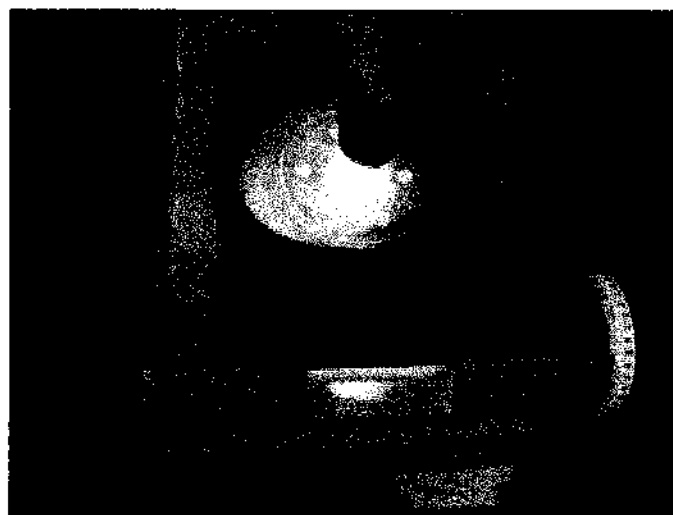
Pour chaque échantillon testé, utiliser 9 boites, Dans chacune on dépose 6 disques : trois disques imbibés de la solution de la concentration de référence et les 3autres disques, imbibés de la solution de l'échantillon.

Incuber toutes les boites à 37°C durant 16h-18h.

- Mesurer les zones d'inhibition en utilisant un appareil de mesure appropriée (*Antibioticzone reader de ficher-Lilly*), la Figure7 représente la disposition des disques ainsi que l'appareil utilisée pour la mesure des zones d'inhibition.



1-la disposition des disques

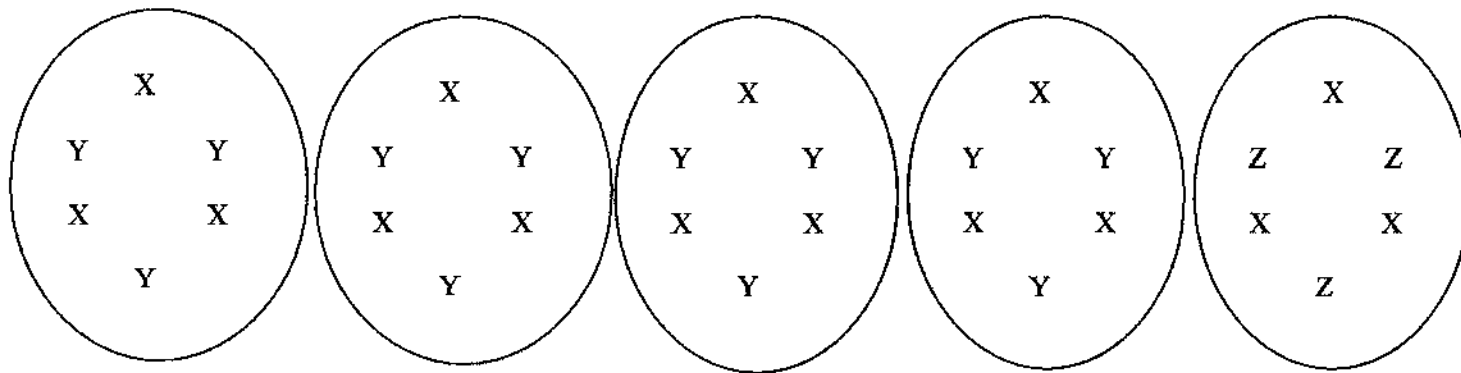


2-Mesure des zones inhibitrices.

Figure 7 : la disposition des disques et la mesure des zones inhibitrices(Original,2014)



Selon le mode opératoire de SAIDAL, Les disques sont placés comme suit



X=5.0 X=5.0 X=5.0 X=5.0 X=5.0
 Y=3.2 Y=4 Y=6.2 Y=7.8 Z=ech

X= concentration de référence Y= concentration des disques imbibés d'antibiotique

Figure 8 :Schéma illustratif de la disposition des disques imbibés d'antibiotique.

*Expression des résultats :

$$L = \frac{3a + 2b + c - e}{5}$$

$$M = \frac{a + b + c + d + e}{5}$$

$$H = \frac{3e + 2b + c - a}{5}$$

L: diamètre corrigé de la zone d'inhibition de la concentration la plus faible de l'étalon.

H: diamètre corrigé de la zone d'inhibition de la concentration la plus élevée de l'étalon.

M: diamètre corrigé de la zone d'inhibition de la référence de l'étalon.

C: moyenne des diamètres des zones d'inhibition de la concentration de référence (dose moyenne).

a, b, d,e: moyennes corrigées des autres concentrations de l'étalon respectivement de la plus faible concentration jusqu'a la plus élevée

-tracer la courbe étalon en utilisant les valeurs de diamètres corrigés (L, M, H) comme abscisses et les concentrations en µg/ml de l'antibiotique (faible 0.64, moyen 1.00 et élevée 1.56) comme ordonnés.



-Après les calculs effectués conformément à la PE, on obtient une courbe d'étalonnage à partir de laquelle est déterminée l'activité biologique de chaque échantillon puis calculer le titre microbiologique (T) à l'aide de la formule suivante:

$$T = \frac{y_{\text{moy}} \times \omega_{\text{std}}}{100}$$

*L'équation de la courbe

L'équation de la courbe est obtenue par la formule suivante :

$$y = c_{\text{std}} \times c_{\text{ech}} \frac{x}{1} \times 100$$

*Estimation de la puissance de l'échantillon

-Corriger les valeurs des échantillons analysés de la même manière que pour les solutions d'étalonnage et extrapoler sur la courbe étalon pour détermination de la concentration de l'échantillon.

-À partir de la courbe d'étalonnage, déterminer la concentration X de l'échantillon pour le calcul du titre :

$$\text{Titre} = \frac{(X) \times \text{Puissance du standard}}{100} \longrightarrow (\text{mélange final et produit fini}) : \text{constante.}$$

Puissance du standard (constante) = 64.19

II.4.5. Analyses des produits finis

II.4.5.1. Analyse physico-chimiques

II.4.5.1.1. Aspect

La gentamicine sulfate se présente dans une ampoule en verre contenant une solution limpide.

II.4.5.1.2. Mesure de pH

La mesure est effectuée sur une ampoule pour chaque échantillon (GENTAMICINE, GENTALLINE).

II.4.5.1.3. Identification par chromatographie sur couche mince (CCM)

*Mode opératoire

La même procédure citée dans la partie analyse de la matière première.

II.4.5.2. Analyse biologiques

On effectue les analyses suivantes : test de stérilité, LAL test et le titre microbiologique.



II.4.5.2.1 Test de stérilité

-Ce test est effectué seulement sur le produit de SAIDAL.

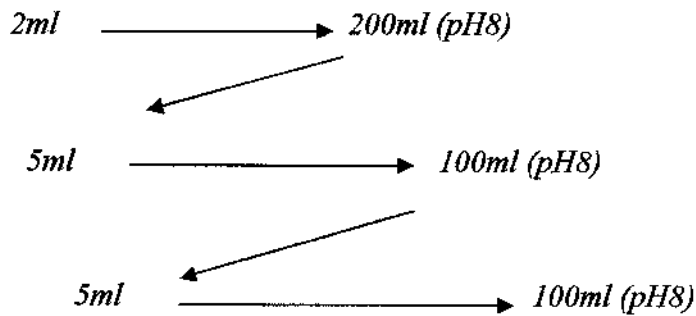
-Laver 20 flacons à l'aide d'eau peptonée puis on les transfère dans les deux godets ensuite, on suit les mêmes étapes du test de stérilité décrit auparavant.

II.4.5.2.2 LAL test

La même procédure citée dans la partie analyse de la matière première.

II.4.5.2.3 Titre microbiologique

Pour le titre microbiologique les dilutions des produits finis sont exprimées au-dessous en suivant les mêmes étapes de la partie analyse de la matière première.



*Chapitre III : Résultats
et discussions*

III.1. Résultats des analyses physico-chimiques de la matière première

III.1.1. Identification de la matière première (GS)

III.1.1.1. Spectrophotométrie I.R

Les spectres d'adsorption I.R de la gentamicine sulfate et du standard montrent la fonction OH présente une OH comprise entre $3000-4000\text{ cm}^{-1}$.

La fonction amine est présentée par deux pics (jumeaux) qui sont associée à la bande OH. La relation structure activité est déterminée par la présence des fonctions OH et NH_2 (P.E, 2008)

Dès lors, l'étude comparative des spectres d'adsorption dans I.R de nos échantillons n'a montré aucune différence avec le spectre d'absorption du standard (PE, 2008).

La technique spectrophotométrique I.R ne permet pas tout seul de déterminer de façon précise la structure d'un composé surtout si ce composé a une structure voisin d'un autre composé.

III.1.1.2. Résultat de l'identification de la matière première par CCM

Les résultats de l'identification de la gentamicine sulfate par chromatographie sur couche mince sont exprimés dans la Figure 14.

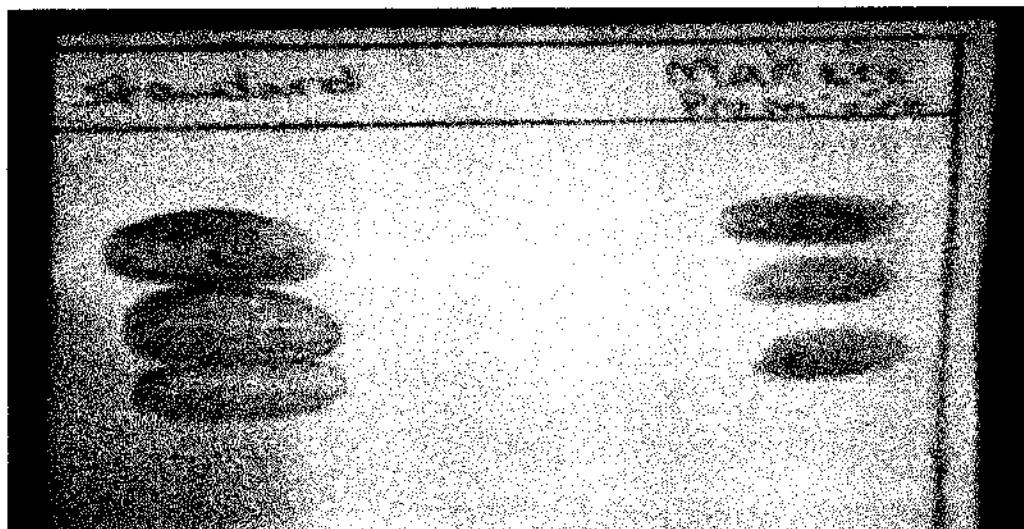


Figure 9 : Identification du standard et matière première de la Gentamicine Sulfate par CCM. (Original, 2014).

L'étude par CCM de la gentamicine sulfate (figure 9) avec révélation à la ninhydrine a permis de mettre en évidence trois taches reflétant trois composants de la Gentamicine Sulfate à savoir la gentamicine C1, C1a, et C2, leurs vitesses de migration différent selon leurs affinité aux mélanges de solvant de la phase mobile. La composition de la GS est identique à celle du standard de référence.



III.1.1.3. Réaction des sulfates

Les résultats de la réaction des sulfates du prélèvement de l'échantillon de Gentamicine Sulfate sont révélés positifs suite à la formation d'un précipité blanc, qui traduit la formation du sulfate de baryum.

Les résultats de l'étude spectrale, de la CCM et de la réaction des sulfates, nous ont permis de confirmer que le prélèvement de l'échantillon examiné correspond bien à la gentamicine sulfate.

III.1.1.4. Aspect

La gentamicine Sulfate a une couleur sensiblement blanche, ce résultat est identique à celui rapporté par les pharmacopées Européenne, 2008.

III.1.1.5. Solubilité

On a trouvé que la GS est soluble dans l'eau, et pratiquement insoluble dans l'alcool, ces résultats sont conformes aux normes de la Pharmacopée Européenne (2008).

III.1.1.6. pH de la matière première

Les résultats sont exprimés dans le tableau ci-dessous

Tableau VIII : valeur du pH de la matière première

	pH	Normes de PE 2008
Matière première	4.32	3.5 - 5

Les résultats obtenus sont conformes aux normes désignées dans la P.E, 2008.

III.1.1.7. Pouvoir rotatoire

Tableau IX : valeurs du pouvoir rotatoire de la gentamicine sulfate

Matière première	α	Norme De la (PE, 2008)
Lot N° :1	+115,10°	107°-121°
Lot N°: 2	+112,91°	
Lot N°: 3	+113,45°	
Moyenne	+113,82	107°-121°

La moyenne des valeurs enregistrées répondent à la norme de la PE,2008, ce paramètre physique qui est un critère d'identité et de pureté donne un bon renseignement sur les composés



responsables de la déviation du plan de polarisation de la lumière (composés ayant une asymétrie dans leurs composition chimiques) (L'espagnole, 1974).

Donc la Gentamicine sulfate possède ce caractère, ce qui permet de dire que la molécule qui a dévié le plan de polarisation est probablement la Gentamicine sulfate.

III.1.1.8. Les cendres sulfuriques

Les résultats du pourcentage des cendres obtenus pour les trois prélèvements de l'échantillon de gentamicine sulfate sont présentés dans le tableau X

Tableau X : Résultats du pourcentage des cendres de l'échantillon de gentamicine sulfate.

Prélèvement	Cendres (%)	Normes de la (P.E, 2008).
1	0.24	<1 %
2	0.40	
3	0.30	
Moyenne	0.31	<1%

Les résultats de la mesure des cendres montrent que la moyenne des trois prélèvements de l'échantillon de la matière première est conforme aux normes de la pharmacopée Européenne (2008), qui prévoit des valeurs de cendres inférieures ou égale à 1%.

La présence d'un ou plusieurs produits étrangers au sein d'une substance chimique peut avoir pour résultats d'en abaisse l'activité par diminution du titre, mais aussi d'en augmenter la toxicité lorsque l'impureté est particulièrement nocive. Ces deux raisons expliquent que l'on soit toujours amené à rechercher les impuretés dans une substance chimique à destination médicamenteuse (L'espagnole, 1974).

III.1.1.9. Le sulfate

Les résultats du pourcentage du sulfate pour les trois prélèvements de l'échantillon de gentamicine sulfate ainsi que leurs moyennes sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau XI : Résultats du pourcentage du sulfate de l'échantillon de gentamicine sulfate.

Prélèvements	Les sulfates (%)	Normes de la Pharmacopée Européenne 2008.
1	30.45	Entre 31 et 34%
2	31.70	
3	32.61	
Moyenne	31.58	Entre 31 et 34%

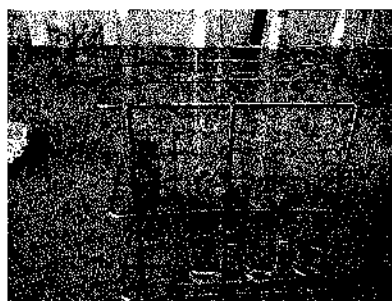
Les résultats de la mesure des sulfates figurant dans le tableau XII, montrent que la moyenne des trois prélèvements de l'échantillon de la matière première est conforme aux normes de la (P.E, 2008), qui prévoit des valeurs de sulfates entre 31 et 34%.

III.1.1.10. Aspect de la solution de Gentamicine sulfate

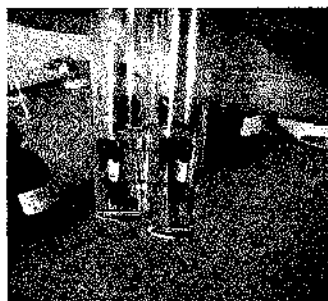
*Degré de coloration et de limpidité

L'aspect de la solution de Gentamicine sulfate a été réalisé par la détermination du degré de coloration et de l'limpidité.

Les résultats ont montrés que la solution des prélèvements analysés est moins colorée et moins limpide que la solution témoin (Figure16). Ces résultats sont conformes aux normes de la (P.E, 2008), ceci traduit une stabilité de la molécule de gentamicine sulfate, qui peut être dégradée dans des conditions de stockage inadéquates.



a) Degré de coloration.



b) Degré de limpidité.

Figure 10 : degré de limpidité et coloration (original,2014).

III.1.1.11. Teneur en eau de la Gentamicine sulfate

Tableau XII : Teneur en eau de la GS

Echantillons	Teneur en eau (%)	Normes de la Pharmacopée Européenne 2008.
	M.P (GS)	< 15%
1	9.30	
2	5.20	
3	8.26	
Moyenne	7.58	<15%

La moyenne des valeurs obtenues est conforme aux normes de la (P.E, 2008). Cependant nous remarquons que la valeur supérieure est de 9.30. Une teneur élevée en eau est probablement due à :

-une mal extraction de la MP après la fermentation.



-au stockage dans un milieu humide ou à leur conditionnement : au cours de la chaîne de conditionnement il y'a possibilité d'absorber l'humidité car la GS est hygroscopique (Cooper, 1999).

La teneur en eau constitue le meilleur repère de la qualité et de la durabilité ainsi que la stabilité d'un produit.

III.2. Résultats des analyses physicochimiques des produits finis

III.2.1. Résultat de l'identification des produits finis par CCM

Après la migration de la phase mobile, nous remarquons l'apparition de trois fractions au niveau des échantillons de la GENTAMINE et la GENTALLINE identique à celles du standard. Ces trois fractions correspondent aux trois composants de la gentamicine sulfate (principe actif).

Première fraction = $c_2a + c_2$.

Deuxième fraction = c_1a .

Troisième fraction = c_1 .

Suite aux résultats obtenus la GENTALLINE et la GENTAMINE présentent la même composition qualitative en principe active par rapport au standard de la Gentamicine. La figure 11 présente le développement du chromatogramme.

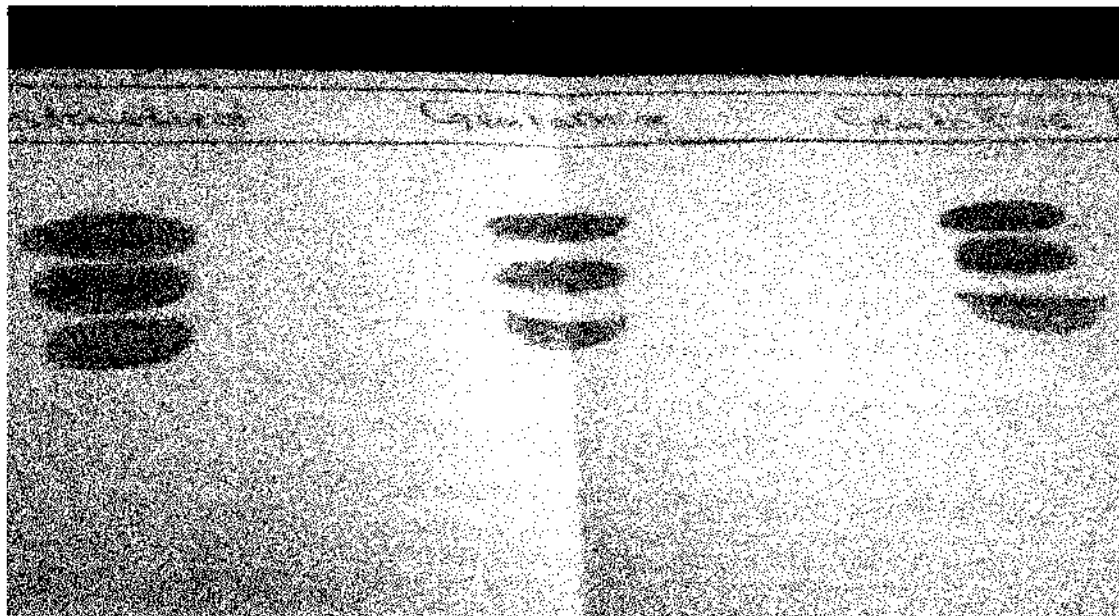


Figure 11 : le développement de CCM (GENTAMINE et GENTALLINE). (Original, 2014).



III.2.2. L'aspect des produits finis

Tous les échantillons de la GENTALLINE (SCHERING) et la GENTAMINE (SAIDAL) se présentent dans des ampoules contenant une solution limpide, ce résultat est identique à celui rapporté par les Pharmacopées Européenne, 2008.

III.2.3. pH des produits finis

Les résultats sont exprimés dans le tableau ci -dessous

Tableau XIII : les différents pH des produits finis

Produits finis	pH	Normes de la PE 2008
Gentamine (SAIDAL)	3.93	3.5 - 5
Gentalline (SCHERING)	4.76	

Les résultats obtenus sont conformes aux normes désignées dans la pharmacopée.

III.3. Résultats des analyses microbiologiques de la matière première et produits finis

III.3.1. Test de stérilité

Aucune prolifération microbienne n'est observée après 14 jours d'incubation sur les deux milieux de culture (soja bouillon et thioglycolate) (figure 17), ce qui traduit la satisfaction de la matière première et du produit fini à l'essai de stérilité, l'absence de toute prolifération microbienne est due à l'utilisation d'un principe actif stérile, à l'utilisation d'eau pour préparation injectable stérile et au respect des règles élémentaires de l'hygiène.

Selon (Le Hir, 2002), toute les préparations injectables doivent être stériles et tous les produits présentés comme stériles doivent répondre à l'essai de stérilité de la Pharmacopée Européenne, mais la réalisation de l'essai de stérilité ne suffit pas à garantir la stérilité d'un produit : l'assurance de la stérilité passe également par l'application de procédés de production convenablement validés.

III.3.2. Résultats du test de fertilité des milieux de culture

Les résultats du test de fertilité des milieux de culture sont portés dans le tableau XIV.



Tableau XIV : résultats du test de fertilité des milieux de culture

Milieux de culture	Résultats	Normes de la Pharmacopée Européenne 2008
Milieu de thioglycolate+ Mélange de germes de référence	Formation d'un trouble microbien	La formation d'un trouble microbien.
Milieu soja bouillon+mélange de germes de référence	Formation d'un trouble microbien	

Les résultats obtenus après le test de fertilité montrent que les deux milieux utilisés pour le test de stérilité sont fertiles, du fait de la formation d'un trouble microbien due à la croissance des micro-organismes ensemencés

III.3.3. LAL test

Les résultats de la recherche des endotoxines dans la matière première et le produit fini sont portés respectivement dans le tableau suivant :

Tableau XV : résultats de la recherche des endotoxines des trois prélèvements de l'échantillon de la matière première et produits finis.

Prélèvements	Résultats de l'échantillon	Résultats du témoin	Normes de la P.E, 2008
Matière première	Négatif	positif	Résultat négatif (absence d'endotoxines)
Gentamine	Négatif	positif	
Gentalline	Négatif	positif	

Après une heure d'incubation, nous observons l'absence du gel dans tous les tubes de nos échantillons, alors qu'il est présent dans le tube témoin, cela veut dire que nos produits sont dépourvus d'endotoxine.

LAL test détecte très rapidement les infections d'origine bactérienne Gram- .

III.3.4. Résultats du titre microbiologique de la matière première et produits finis

III.3.4.1. Titre microbiologique de la matière première

Les diamètres des zones d'inhibitions du standard, les valeurs corrigées ainsi que les diamètres corrigés sont mentionnées dans le tableau suivant :



Tableau XVI : les diamètres des zones d'inhibitions du standard pour le prélèvement de MP

Concentration (µg /ml)	CC 0.64 (3.2 ml)		CC 0.80 (4 ml)		CC 1.24 (6.2ml)		CC 1.56 (7.8 ml)	
	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	150	136	152	144	150	156	148
	152	140	154	144	147	153	152	170
	146	138	152	146	147	155	150	168
	150	136	150	152	153	158	150	146
	149	139	148	150	152	158	148	163
	150	137	150	148	148	156	144	161
	148	132	151	150	148	160	146	168
	140	130	150	146	150	160	147	166
	146	133	155	146	152	160	152	170
Moyennes	147,88	135,66	151,33	147,33	149,66	157,33	148,55	164,44
Moyenne des CC	149,35							
Valeurs corrigés	a=137,13		b= 145,35		d=157,02		e= 165,24.	
Diamètres corrigés	L= 137,94.				M=150,81.		H= 164,39.	

Tableau XVII : les diamètres des zones d'inhibitions du prélèvement de MP

Concentration (µg /ml)	Essai 1		Essai 2		Essai 3	
Diamètres des zones d'inhibition (mm)	145	152	152	150	151	149
	142	156	146	154	151	154
	148	148	152	149	153	153
	150	152	152	155	151	148
	148	152	152	160	151	153
	145	152	148	153	148	151
	152	154	152	154	153	153
	150	154	151	151	154	154
	152	155	153	152	152	153
Moyennes	148	152,77	150,88	153,11	151,55	152
Valeurs corrigés	154,12		151,58		149,8	
	1,11,		0,96		0,98,	

On trace la droite de la concentration (UI/ml) en fonction du diamètre due au standard pour calculer les concentrations correspondantes de l'échantillon (MP),(Voir figure 18).

154,12 correspond à 1,11 µg /ml

151,58 correspond à 0,96 µg /ml

149,8 correspond à 0,98 µg /ml

D'ou

$$Y = \left[\frac{50.5.5}{50.50.50} \right] \left[\frac{50.50.50.50}{50.5.5.5} \right] \times \frac{.100}{1}$$



Y1=111.

Y2=96.

Y3=98

Ymoy = 101.66

T= 101.66 x 64.19/100

T=652,55

Tableau XVIII :résultat du titre microbiologique de la GS

E	Titre microbiologique	Norme la P.E, 2008
Lot N° :01	652,55	500-700mg/ml

Le dosage de la matière première est conforme à la spécifique norme la P.E, 2008

Les diamètres des zones d'inhibitions du standard, les valeurs corrigées ainsi que les diamètres corrigés sont mentionnées dans le tableau XIX



HL3.4.2. Titre microbiologique de la Gentamine (SAIDAL)

Tableau XIX : les diamètres des zones d'inhibitions du standard pour le prélèvement de Gentamine (SAIDAL)

Concentration (µg /ml)	CC 0.64 (3.2 ml)		CC 0.80 (4 ml)		CC 1.24 (6.2ml)		CC 1.56 (7.8 ml)	
Diamètres des zones d'inhibition (mm)	150	136	152	144	150	156	148	168
	152	140	154	144	147	153	152	170
	146	138	152	146	147	155	150	168
	150	136	150	152	153	158	150	164
	149	139	148	150	152	158	148	163
	150	137	150	148	148	156	144	161
	148	132	151	150	148	160	146	168
	140	130	150	146	150	160	147	166
	146	133	155	146	152	160	152	170
Moyennes	147,88	135,66	151,33	147,33	149,66	157,33	148,56	166,44
Moyenne des CC	149,35							
Valeurs corrigés	a= 137,13		b=145,35		d=157,02		e= 167,23	
Diamètres corrigés	L =136,84				M=151,21		H= 165,59	

Tableau XX : les diamètres des zones d'inhibitions du prélèvement de Gentamine (SAIDAL)

Concentration (µg /ml)	CC		Essai 1		CC		Essai 2		CC		Essai 3	
	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	152	170	151	165	153	168	148	168	150	170	154
	154	165	150	168	150	161	152	167	155	165	142	166
	154	167	156	170	150	166	150	167	156	170	150	166
	150	164	154	166	147	165	156	172	148	168	149	162
	148	170	155	172	150	166	148	170	155	172	150	166
	151	170	150	163	148	162						
Moyennes	151,66	168,11	152,77	167,22	148,77	165,11						
Valeurs corrigés	166,40		164,00		165,00							
												1.60

On trace la droite de la concentration (UI/ml) en fonction du diamètre due au standard pour calculer les concentrations correspondant de l'échantillon. (Voir figure : 19)

-166,40 correspond à 1,65µg/ml

-164,00 correspond à 1,50µg/ml

-165,00 correspond à 1,60µg/ml

Pour calculer la zone moyenne d'inhibition, on procède de la manière suivante :

$$\left. \begin{array}{l} Y1= 133,84. \\ Y2=121,67 \\ Y3= 129,77 \end{array} \right\} Y_{moy} = 128,42$$

$$T=128,39 \times 64, 19/100$$

$$T=82,43 \text{ mg/ml.}$$

III.3.4.2. Titre microbiologique de la Gentalline (SCHERING)

Tableau XXI : les diamètres des zones d'inhibitions du standard pour le prélèvement de Gentalline (SCHERING)

Concentration (µg /ml)	CC 0.64 (3.2 ml)		CC 0.80 (4 ml)		CC 1.24 (6.2 ml)		CC 1.56 (7.8 ml)	
Diamètres des zones d'inhibition (mm)	148	139	159	154	161	165	164	174
	154	139	154	144	167	159	159	168
	155	139	152	151	150	158	155	170
	148	139	153	154	155	159	164	173
	154	140	157	154	148	157	162	168
	154	141	159	144	152	163	153	164
	155	140	157	153	154	158	150	170
	158	141	159	145	163	165	153	168
	156	143	152	152	158	162	153	168
Moyennes	153,55	140,11	155,77	150,11	156,44	160,66	157,77	169,22
Moyenne des CC	155,69							
Valeurs corrigés	a= 142,25		b=150,03		d= 159,91		e= 167,91	
Diamètres corrigés	L = 142,91				M= 154,84		H= 167,39	

Tableau XXII : les diamètres des zones d'inhibitions du prélèvement de Gentalline (SCHERING)

Concentration (µg /ml)	Essai 1		Essai 2		Essai 3	
Diamètres des zones d'inhibition (mm)	154	170	155	170	156	169
	154	167	151	164	152	165
	157	169	149	168	152	167
	152	164	149	168	151	168
	156	165	150	165	153	170
	160	164	150	166	152	166
	150	167	152	168	154	179
	163	167	148	163	154	166
	152	163	149	168	152	169
Moyennes	155,33	166,22	150,33	166,66	152,88	166,77
Valeurs corrigés	166,58		172,020		169,58	
	1,52		1,82		1,70	

On trace la droite de la concentration (UI/ml) en fonction du diamètre pour déterminer la concentration de l'échantillon (figure 20).

-166,58 correspond à 1,52µg/ml

-172,02 correspond à 1,82µg/ml

-169,58 correspond à 1,70µg/ml

Y moy = 122.49

T= 122.49 x 64.19/100.

T=78.63

TableauXIII : Résultats du titre microbiologique de GENTAMINE et GENTALLINE.

E	GENTAMINE	GENTALLINE	Norme de la P.E, 2008
Lot N° 01	82,43 mg/2ml	78 ,63 mg/2ml	75-85 (mg/2ml)

Le dosage d'une substance est la dernière étape de l'analyse chimique pour l'obtention de la concentration adéquate de cette substance par unité de volume ou de masse.

Le tableau XIII résume les valeurs du dosage microbiologique de la GENTALLINE (SCHERING) et la GENTAMINE (SAIDAL).

Nous remarquons que les deux produits finis répondent aux normes de la P.E,2008et qu'il ya une différence entre les deux produits, les résultats de la GENTAMINE sont supérieures ou égale à 80mg /2ml. Par contre, ceux de la GENTALLINE sont inférieur à cette valeur.



Courbe d'étalonnage

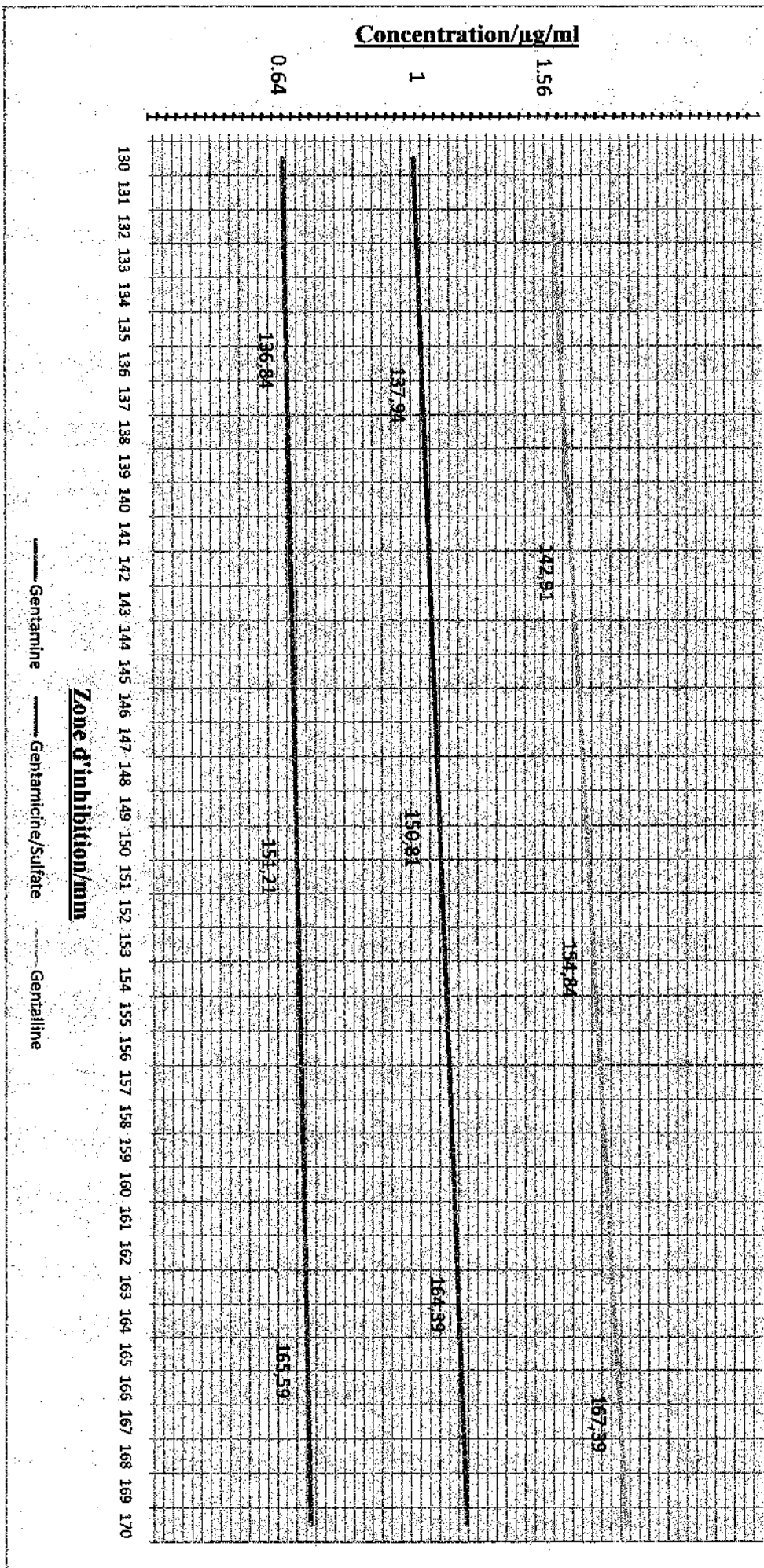


Figure 12. Courbe d'étalonnage.

Conclusion

Conclusion

Au terme de notre travail qui est consacré sur le contrôle de la matière première et deux produits finis sous forme injectable, on peut conclure que :

- Une bonne qualité de la matière première avec un aspect et une couleur conformes aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne 2008.
- Les résultats du contrôle physico-chimique sont satisfaisants selon les normes prévues par la Pharmacopée Européenne 2008.
- Des résultats très rassurants sur le plan microbiologique, la GETAMINE et la GENTALLINE possèdent la même composition qualitative en principe actif sauf que les excipients sont modifiés cas de la (GENTAMINE).

Cette éminente conformité est fondée sur :

- L'application d'une bonne pratique d'hygiène et de production à l'unité ;
- Maintenance quotidienne des équipements et de matériel ;
- Utilisation d'appareils de grande sensibilité et de fiabilité comme IR ;
- Un stockage régulier de produit avec un système de filtration d'air efficace ;
- La mise à jour et le suivie des normes mondiales préconisées ;

Tous ces paramètres ci mentionnés constituent la préoccupation majeure du groupe en perspective du développement.

D'autre part, notre perspective est de garantir un produit pharmaceutique dans le temps et dans l'espace afin de préserver la santé publique qui est notre devise.

« Enfin, une qualité est toujours fabriqué avant d'être contrôlée ».

