

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb Blida 01
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : Biochimie

Thème

**Contrôle de qualité physico-chimique et
microbiologique d'un médicament non obligatoirement
stérile ZANITRA®5mg**

Présenté par :

M^{elle} Mekinezi Ikram

Devant le jury composé de :

M^{me} Ouriach H.	MAB	USDB1	Président
M^{me} Benchabane S.	MCA	USDB1	Examinatrice
M^{me} Menacer A.	Docteur	USDB1	Promotrice
M^{me} Benhaddad N.	Analyste	SAIDAL	Co-promotrice

Année universitaire : 2021/2022



Remerciements

En préambule à ce mémoire, je tenais tout d'abord à remercier **dieu** le tout puissant, le miséricordieux de m'avoir donné la santé, le courage et la persistance d'achever ce travail dans des meilleures conditions.

J'adresse évidemment mes sincères remerciements à Mme **Ouriach H**, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance et de l'enrichir par sa présence.

Mes vifs remerciements vont à Mme **Benchabane S** d'avoir accepté de me consacrer son temps en examinant le présent mémoire, j'en suis honorée et je lui exprime toute ma profonde reconnaissance.

J'adresse mes profondes gratitudes et mes sincères remerciements à mon encadrante Mme **Menacer A**, pour sa grande disponibilité, son aide, sa gentillesse et ces précieux conseils tout au long de mon travail.

Je remercie également ma co-promotrice Mme **Benhaddad N**, de m'avoir guidé tout au long de la réalisation de ce travail.

Je voudrais témoigner ma profonde reconnaissance à Mr **Nouas S**, chef de service du laboratoire de physico-chimie de m'avoir accueilli avec les meilleures conditions de travail et tout le personnel de laboratoire de contrôle qualité de l'unité Biotic du groupe SAIDAL notamment : Mme **Lardjane D**, Mr **Razki** pour leurs soutiens et encouragements.

Mes remerciements s'étendent également à tous les enseignants et particulièrement le chef d'option de Biochimie Mme **Saidi F** pour ses efforts durant notre cursus universitaire.



Dédicaces

C'est avec une profonde gratitude et sincères mots que je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère Meriem

A qui je dois la réussite, pour l'éducation qu'elle m'a prodiguée, pour le sens du devoir qu'elle m'a enseignée depuis mon enfance. Puisse dieu tout puissant, te combler de santé et bonheur.

A mon cher père Redouane

L'épaule solide, la personne la plus digne de mon estime et de mon respect, celui qui a sacrifié pour m'offrir les conditions propices à ma réussite.

J'implore Dieu, tout puissant, de t'accorder santé et longue vie.

A mes chères sœurs Khadidja et Amina et leurs maris Ismaïl et Nadjib Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

Que Dieu vous protège et vous offre la chance et le bonheur.

A mon cher frère Ayoub

Ma source de joie et de bonheur, que dieu te réserve un avenir meilleur.

A mon oncle paternel Mourad

Celui qui m'a toujours incitée à aller de l'avant dans mes études, je te dédie ce travail tout en espérant t'avoir rendu fier.

A ma cousine Naïla

Celle qui m'a toujours aidée et supportée dans les moments difficiles.

A toutes mes amies Manel, Yasmine, Youssra et Sabrina

Qui m'ont accompagnée dans les péripéties de ma vie.

Liste des figures

Figure 1 : Différentes voies d'administration parentérale.....	6
Figure 2 : Différentes voies d'administration et leurs formes galéniques associées.....	6
Figure 3 : Frottis sanguin d'une patiente atteinte d'anémie macrocytaire.....	8
Figure 4 : Etui de ZANITRA [®] 5mg.....	9
Figure 5 : Plaquette thermoformée de ZANITRA [®] 5mg.....	9
Figure 6 : Structure de l'acide folique.....	11
Figure 7 : Principale voies du métabolisme des folates.....	11
Figure 8 : Structure du 5-méthyltétrahydrofolate.....	12
Figure 9 : Absorption, distribution, métabolisme et élimination des folates.....	13
Figure 10 : Procédé de fabrication de ZANITRA [®] 5mg.....	17
Figure 11 : Acide folique.....	20
Figure 12 : Principe d'une chaîne HPLC.....	22
Figure 13 : Le phosphate bicalcique.....	24
Figure 14 : Appareil de détermination de la friabilité des comprimés non enrobés.....	31
Figure 15 : Appareil dissolutest à palette.....	33
Figure 16 : Principe générale de spectrophotométrie d'absorption UV/Visible.....	35
Figure 17 : Schéma récapitulatif des méthodes de contrôle de qualité physico-chimique et microbiologique de ZANITRA [®] 5mg.....	40
Figure 18 : Chromatogramme de témoin.....	42
Figure 19 : Chromatogramme de l'essai	43
Figure 20 : Résultat de chauffage à 70°C.....	47
Figure 21 : Absence de substances insolubles.....	47
Figure 22 : Résultats des chlorures.....	48
Figure 23 : Résultats des sulfates.....	48
Figure 24 : Résultats de fer.....	48
Figure 25 : Résultats de dénombrement des bactéries après 5jours.....	53
Figure 26 : Résultats de dénombrement de levures et moisissures après 7jours.....	53
Figure 27 : Résultats de recherche d'Escherichia coli après 48h.....	54

Liste des tableaux

Tableau I : Les avantages et les inconvénients des comprimés.....	7
Tableau II : Composition du médicament ZANITRA® 5mg.....	9
Tableau III : Résultats de contrôle physico-chimique de l'acide folique.....	41
Tableau IV : Résultats de chromatographie de la solution témoin.....	42
Tableau V : Résultats de chromatographie de la solution d'essai.....	43
Tableau VI : Résultats de contrôle physico-chimique du phosphate bicalcique.....	45
Tableau VII : Résultats de contrôle physico-chimique du produit fini.....	49
Tableau VIII : Résultats de l'uniformité de teneur.....	50
Tableau IX : Résultats de dissolution de ZANITRA® 5mg.....	51
Tableau X : Résultats de contrôle microbiologique du produit fini.....	52

Abréviations

LNCPP : laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques

GDC : Guée de Constantine

IUPAC : commission de nomenclature de l'Union internationale de chimie pure et appliquée

DCI : dénomination commune international

AMM : autorisation de mise sur le marché

OMS : Organisation Mondial de la Santé

ORL : oto-rhino-laryngologique

PE : Pharmacopée Européenne

VGM : volume globulaire moyen

MTHFR : Methylenetetrahydrofolate réductase

S-FBP: Folates Binding Proteins soluble

BPF : bonnes pratiques de fabrication

AFTN : anomalie de fermeture du tube neural

ISO : International Standard Organisation

AF : acide folique

ADN : acide désoxyribonucléique

SCR : substance chimique de référence

Cp : comprimé

R : pure

UV : ultraviolet

Te : teneur en eau

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

Cs : cendres sulfuriques

Dg : dosage

ppm : partie par million

F : friabilité

MM : masse moyenne

UFC : unité formant colonie

RSD : relative standard déviation

Glossaire

Pharmacopée : est un ouvrage de référence des industries pharmaceutiques, elle établit les règles de restrictions à respecter lors de la fabrication ou le contrôle des médicaments grâce à des spécifications communes reconnues. Chaque édition de la pharmacopée a une durée de validité de 3ans (**Pont, 2011**).

Pharmacocinétique : étude du devenir des médicaments dans l'organisme, de l'absorption à l'élimination en passant par la distribution (**Maire et al, 2000**).

Pharmacodynamie : étude de l'action exercée par les médicaments sur l'organisme (**Neal, 2017**).

Entérocyte : une cellule épithéliale hyperpolarisé localisée dans l'intestin grêle, elle a pour fonction de barrière passive (**Snoeck et al, 2005**).

Erythropoïèse : c'est la production des hématies à partir d'une cellule souche hématopoïétique (**Allard, 2013**).

Anomalie de fermeture du tube neurale : c'est une malformation congénitale de la formation du système nerveux central (**Radouane et al, 2015**).

Xérophtalmie : est un syndrome de l'œil sec par une raréfaction quali-quantitative du film lacrymal avec irritation et douleur (**Younan, 2015**).

Pellagre : une maladie systémique rare avec une atteinte cutanée, digestive et parfois neurologique, elle est due à une carence en niacine (vitamine B3) (**Benslimane et al, 2021**).

Béribéri : une maladie caractérisée par une cardiopathie provoquée par un déficit en vitamine B1 (**Moonen et al, 2007**).

Erythroblastes : ce sont des cellules de la moelle osseuse spécialisées dans la synthèse de l'hémoglobine et donnant naissance aux globules rouges (**LAROUSSE, 2012**).

Résumé

Notre travail porte sur l'étude d'un médicament antianémique sous forme de comprimés ZANITRA[®]5mg. Il a été basé sur la vérification de la bonne qualité du médicament au sein de laboratoire de contrôle de qualité de l'unité BIOTIC (Guée de Constantine) du groupe SAIDAL. Il comprend :

Un contrôle de qualité physico-chimique des matières premières mettant en évidence l'ensemble d'analyses indispensables par des moyens chimiques tels que la recherche d'impuretés inorganiques (fer, chlorures, carbonates), le dosage du principe actif dans le produit fini et par des moyens chromatographiques ainsi que des moyens physiques comme la friabilité et la dissolution.

Un contrôle microbiologique du produit fini est basé sur le dénombrement des germes pathogènes pouvant altérer la qualité du médicament.

L'ensemble des résultats obtenus ont montré une conformité aux normes internationale décrites par la pharmacopée européenne 2017. Cela nous indique :

- Sur le plan physico-chimique : la bonne qualité des matières premières et la bonne maîtrise de fabrication du produit fini.

- Sur le plan microbiologique : l'absence totale des germes viables et pathogènes prouve les bonnes conditions d'hygiène.

Dans ce sens, le médicament ZANITRA[®]5mg est d'une bonne qualité et peut être commercialisé.

Mots clés : Acide folique, contrôle microbiologique, contrôle physico-chimique, ZANITRA[®] 5mg.

Abstract

Our work focuses on the study of an antianemic drug in the form of ZANITRA[®] 5mg tablets. It was based on the verification of the good quality of the drug in the quality control laboratory of the BIOTIC unit (Guée de Constantine) of the SAIDAL group. He understands:

A physico-chemical quality control of raw materials highlights the essential set of analyses by chemical means such as the search for inorganic impurities (iron, chlorides, carbonates), dosage of the active ingredient in the finished product and chromatographic as well as physical means such as friability and dissolution.

A microbiological control of the finished product is based on the enumeration of pathogenic germs that can alter the quality of the drug.

All the results obtained showed compliance with the international standards described by the European Pharmacopoeia 2017. This tells us:

- On the physico-chemical level: the good quality of the raw materials and the good mastery of manufacture of the finished product.
- On the microbiological level: total absence of viable and pathogenic germs which proves the good hygienic conditions.

In this sense, the drug ZANITRA[®] 5mg is of the good quality and can be marketed.

Keywords: Folic acid, microbiological control, physico-chemical control, ZANITRA[®] 5mg.

ملخص

يهدف عملنا الى التحقق من جودة دواء مضاد لفقر الدم على شكل أقراص زانيترا® 5مغ على مستوى مخبر مراقبة الجودة في وحدة بيوتيك لمجمع صيدال (جسر قسنطينة). حيث تتضمن هذه المراقبة:

مراقبة الجودة الفيزيوكيميائية للمواد الأولية التي تبرز مجموعة التحاليل الأساسية بالوسائل الكيميائية مثل البحث عن الشوائب غير العضوية (الحديد، الكلوريدات، الكربونات) جرعة المادة الفعالة في المنتج النهائي والكروماتوغرافية وكذلك بالوسائل الفيزيائية مثل التففت والذوبان.

المراقبة الميكروبيولوجية للمنتج النهائي المتمثلة في كشف عدد الجراثيم والمكروبات الخطيرة المسببة للأمراض التي يمكن ان تغير من جودة الدواء.

أظهرت النتائج الاجمالية المتحصل عليها في الدراسة الامتثال للمعايير العالمية التي وضعها دستور الادوية الأوروبي 2017، وفقا لهذه النتائج تمكنا من الاستنتاج أن:

- على المستوى الفيزيوكيميائي: النوعية الجيدة للمواد الأولية والاتقان الجيد لتصنيع المنتج النهائي.
- على المستوى الميكروبيولوجي: الغياب التام للجراثيم والبكتيريا المسببة للأمراض اثبت الظروف الصحية الجيدة. وعليه فإن دواء زانيترا® 5مغ ذو نوعية جيدة ويمكن تسويقه دون أي خطر.

الكلمات الدالة: حمض الفوليك، زانيترا® 5مغ، مراقبة الجودة الفيزيوكيميائية، مراقبة الجودة الميكروبيولوجية.

Tables des matières

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

Chapitre I : partie bibliographique

I.1. Généralités sur les médicaments.....	3
I.1.1. Définition d'un médicament.....	3
I.1.2. Composition d'un médicament.....	3
I.1.3. L'origine des médicaments.....	3
I.1.4. Dénomination d'un médicament.....	4
I.1.5. Types de médicament.....	5
I.1.6. Les voies d'administration d'un médicament.....	5
I.1.7. Les comprimés.....	7
I.1.8. Les vitamines.....	7
I.1.9. Anémie mégaloblastique.....	8
I.1.10. Médicaments antianémiques.....	8
I.2. ZANITRA® 5mg.....	8
I.2.1. Description du médicament ZANITRA®5mg.....	8
I.2.2. Composition.....	9
I.2.3. Acide folique.....	11
I.2.3.1. Définition.....	11
I.2.3.2. Pharmacodynamie.....	11
I.2.3.3. Pharmacocinétique.....	12
I.2.3.4. Indications.....	13
I.2.3.5. Contre-indications.....	14
I.2.3.6. Posologie et mode d'administration.....	14

I.2.3.7. Interaction médicamenteuse.....	14
I.2.3.8. Effets indésirables.....	14
I.2.3.9. Surdosage.....	14
I.3. Contrôle de qualité d'un médicament.....	14
I.3.1. Définition de la qualité	14
I.3.2. Assurance de la qualité.....	14
I.3.3. Bonne pratique de fabrication.....	15
I.3.3.1. Autorisation de mise sur le marché.....	15
I.3.5. Définition de contrôle.....	15
I.3.6. Contrôle de qualité.....	15
I.3.7. Différents types de contrôle de qualité.....	16
I.3.8. Procédé de fabrication de ZANITRA [®] 5mg.....	16

Chapitre II : matériels et méthodes

II.1. Matériels.....	19
II.1.1. Matériels non biologique.....	19
II.2. Méthodes.....	19
II.2.1. Echantillonnage.....	19
II.2.2. Contrôle physicochimique.....	19
II.2.2.1. Matières premières.....	20
II.2.2.2. Produit fini.....	29
II.2.3. Contrôle microbiologique.....	36

Chapitre III : Résultats et Discussions

III.1. Résultats de contrôle physico-chimique.....	41
III.1.1. Résultats de contrôle physico-chimique de principe actif.....	41
III.1.2. Résultats de contrôle physico-chimique de phosphate bicalcique.....	45

III.1.3. Résultats de contrôle physico-chimiques du produit fini.....49

III.2. Résultat de contrôle microbiologique du produit fini.....52

Conclusion.....56

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Un médicament est une substance ou composition utilisée dans la prévention, le diagnostic et le traitement des maladies. **(Dangoumau, 2006)**.

Le marché du médicament s'est fait une place dans la mondialisation. La libre circulation a ouvert la voie dont la perte de contrôle de la réglementation pharmaceutique est l'un des grands dangers. Dans ce nouvel environnement ainsi créé, la notion de médicament de mauvaise qualité est apparue **(Helali, 2017)**.

Un médicament de qualité inférieure est un problème international menaçant la santé publique, il est à l'origine d'une prévalence accrue des maladies et d'une perte de confiance du grand public envers les professionnels de santé. Plus de 920 produits médicaux princeps comme génériques ont été signalés, appartenant à toutes les principales classes thérapeutiques. Ces médicaments sont le fruit de mauvaises méthodes de fabrication et de contrôle de qualité lors du processus de la production et la distribution **(OMS, 2018)**.

Le contrôle de qualité des médicaments est une étape essentielle de la chaîne de distribution des médicaments. Il garantit leurs fiabilités avant leurs utilisations et contribue à la lutte contre les médicaments de qualité inférieure **(Yabre, 2020)**.

En Algérie, c'est le Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques LNCPP qui a pour missions principales, le contrôle de la qualité et l'expertise des produits pharmaceutiques qui comprennent les médicaments, les réactifs biologiques, les produits galéniques, et tout autres produits nécessaires à la médecine humaine **(OMS, 2014)**.

C'est dans ce contexte que nous avons l'intention d'accomplir notre étude au sein de l'industrie pharmaceutique SAIDAL du fait que celle-ci soit la première entreprise pharmaceutique en Algérie depuis 1982 afin d'évaluer la qualité des comprimés antianémiques à base d'acide folique.

La problématique de l'étude menée dans le cadre de ce mémoire est :

Zanitra® 5mg mérite-il une autorisation de mise sur le marché (AMM) en Algérie ? répond-il vraiment aux normes indiquées par le LNCPP ?

Pour réussir à répondre à cette problématique, nous avons réalisé un contrôle de qualité d'un médicament antianémique non obligatoirement stérile ZANITRA® 5mg au niveau de laboratoire de contrôle de qualité de l'unité de Gué de Constantine de la filiale BIOTIC du groupe SAIDAL. Ce contrôle consiste à :

- Effectuer un contrôle physicochimique sur la matière première et le produit fini.
- Contrôler la qualité microbiologique du produit fini, afin de déterminer sa conformité avec les normes décrites dans la pharmacopée européenne 2017.

Ce mémoire de fin d'étude est organisé en trois parties :

- La première partie est consacrée à une étude bibliographique sur les médicaments et le contrôle de qualité des médicaments.
- La deuxième partie porte l'étude complète de contrôle de qualité effectuée dans le laboratoire du médicament ZANITRA®5mg.
- La dernière partie est dédiée à la présentation et l'interprétation des résultats obtenus.

I.1. Généralités sur les médicaments :

I.1.1. Définition

Selon le code de la santé publique (article L5111-1), on entend par médicament à usage humain « Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leur fonction physiologique en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. »

I.1.2. Composition des médicaments

Tout médicament se compose de deux types de substances.

I.1.2.1 Principe actif

Aussi appelé substance active, est tout composant d'un médicament destiné à exercer une action pharmacologique ou un autre effet direct thérapeutique ou préventif d'une maladie. Un médicament peut contenir un ou plusieurs principes actifs (**Aiache et al., 2008**).

I.1.2.2. Excipient

Tout composant présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication autre que le principe actif. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur aux principes actifs contribuant ainsi à certaines propriétés du produit telles que : la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient et la facilité de fabrication. La formulation d'un médicament comprend plusieurs excipients (**Aiache et al., 2008**).

La caractéristique principale d'un excipient est son inertie, il doit être inerte vis-à-vis du principe actif et de l'organisme.

Il existe plusieurs catégories d'excipients :

- **Diluants** : ce sont des excipients inertes ajoutés aux principes actifs permettant d'atteindre une taille convenable du comprimé (**Wouessi Djewe, 2012**).
- **Liants** : utilisés pour lier en masse solide des particules sous forme de grains, et permettent de réduire la force de compression en favorisant les liaisons inter-particulaires (**Pszczolinski, 2018**).
- **Agents de désagrégation** : permettent de détruire la structure compacte du comprimé lors de son administration en favorisant le délitement dont la dispersion du principe actif (**Pszczolinski, 2018**).
- **Lubrifiants** : utilisés dans la fabrication des comprimés pour réduire l'adhésion des excipients sur la paroi de la matrice, et éviter le collage des excipients sur les poinçons (**Perrault, 2009**).

I.1.3. Origine des médicaments

I.1.3.1. Origine naturelle

Médicaments d'origine végétale

La phytothérapie est une manière thérapeutique naturelle et écologique appréciée d'un innombrable public, les médicaments d'origine végétale comprennent soit la plante entière, certaines de ces parties ou encore les principes actifs extraits de végétaux et qui peuvent être synthétisés (**Touitou, 2007**).

Exemple : les alcaloïdes comme la morphine extraite du latex de la capsule du pavot (**Simard, 2013**).

Médicament d'origine animale

L'utilisation d'organes ou de tissus animaux pour produire des médicaments est une pratique très ancienne (opothérapie). Cependant, cette pratique est maintenant abandonnée en raison du risque de contamination d'origine animale.

Exemples : l'insuline extraite du pancréas du porc et de la vache (**Simard, 2013**).

Médicament d'origine minérale

L'emploi des minéraux comme médicaments existe depuis des millénaires.

Exemples : le calcium est utilisé dans le traitement de l'ostéoporose, le sulfate ferreux pour traiter l'anémie (**Simard, 2013**).

I.1.3.2. Origine microbiologique

De nombreux antibiotiques sont produits à partir de microorganismes cultivés en laboratoire tels que les champignons microscopiques, les vaccins obtenus à partir de bactéries ou de virus atténués ou tués (**Simard, 2013**).

I.1.3.3. Origine synthétique

La plupart des médicaments actuellement commercialisés sont obtenus par synthèse organique dans l'industrie pharmaceutique (**Touitou, 2007**).

C'est la synthèse de nouvelles substances chimiques à partir des substances connues.

Exemple : les médicaments antihypertenseurs (**Simard, 2013**).

I.1.3.4. Origine biotechnologique

Il s'agit des médicaments issus des microorganismes génétiquement modifiés.

Exemples : vaccins contre l'hépatite B (**Simard, 2013**).

I.1.4. Dénomination des médicaments

Un médicament peut être nommé de trois façons différentes : par son nom chimique, son nom générique ou son nom commercial.

Le **nom chimique** doit être conforme aux règles de l'IUPAC (commission de nomenclature de l'Union internationale de chimie pure et appliquée). Cette dénomination est rarement employée par les professionnels de santé et incompréhensible pour les non-chimistes (**Vandamme et al., 2010**). Elle donne la description exacte de la composition chimique du médicament et de sa structure moléculaire (**Fortin et Lamontagne, 2015**).

Le **nom générique** ou **dénomination commune internationale DCI** proposée par l'OMS, permet d'identifier le principe actif dans les médicaments avec un nom scientifique simple et utilisable à l'échelle internationale. Elle fait apparaître un segment-clé ou syllabe évocatrice commune à toutes les substances du même groupe chimique (**Vandamme et al., 2010**).

La **dénomination commerciale** appelée aussi nom de fantaisie, il s'agit de noms déposés par le laboratoire pharmaceutique qui commercialise le principe actif concerné. Le choix de ce nom de fantaisie est établi de façon à éviter toute confusion avec d'autres médicaments. Il est généralement suivi de l'un des symboles suivants :

® : Registered mark ou marque enregistrée ™ : Trade mark (**Vandamme et al., 2010**).

I.1.5. Types des médicaments

I.1.5.1 Princeps

Un médicament princeps (d'origine ou de référence) peut être défini comme un médicament original dont la production et la commercialisation ne sont permises qu'au détenteur du brevet de la substance active contenue dans le médicament, et cependant une durée de 20ans en général. Ce médicament doit nécessairement faire l'objet d'essais cliniques avant l'obtention de l'AMM.

Une copie du produit original peut ensuite être développée et commercialisée par d'autres laboratoires sous forme de médicament générique (**Arif et Achour, 2019**).

I.1.5.2. Génériques

Selon l'OMS, « Les génériques sont des copies de médicaments princeps tombés dans le domaine public, contenant la même quantité de principe actif et présentés sous la même forme pharmaceutique avec un même mode d'administration, ces médicaments doivent être des équivalents thérapeutiques aux produits princeps et sont de ce fait interchangeable. Ils doivent en outre présenter un avantage économique » (**Arif et Achour, 2019**).

I.1.6. Les voies d'administration du médicament

I.1.6.1. Voie orale

C'est la voie la plus utilisée et la plus facile, après administration par la bouche, le médicament emprunte la voie digestive, traverse la barrière intestinale puis le foie avant d'être transporté jusqu'au site cible par la circulation sanguine (**Touitou, 2007**).

I.1.6.2. Voie parentérale

Le médicament est destiné à pénétrer par effraction, à travers la peau à l'aide d'une seringue ou une aiguille en vue d'exercer une action locale, localisée ou systémique (Aiache et al., 2011).

Elle englobe les injections par voie intradermique, sous-cutanée et intramusculaire (figure 01).

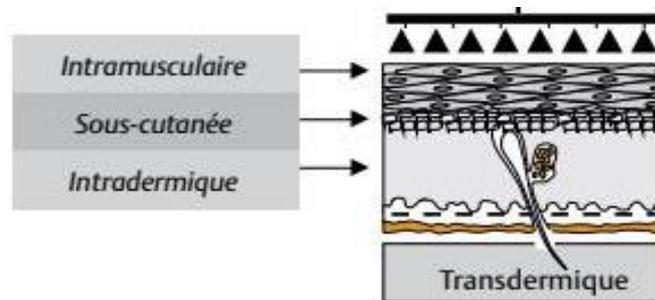


Figure 1 : Différentes voies d'administration parentérale (Beaulieu et al., 2015)

I.1.6.3. Voie transmuqueuse

C'est l'application du médicament à la surface des muqueuses sous une forme galénique adéquate afin d'atteindre directement la circulation générale sans passer par le foie. Elle comporte plusieurs types selon les muqueuses (figure 02) : la voie ORL, la voie pulmonaire, la voie vaginale, la voie rectale, la voie ophtalmique et la voie sublinguale (Aiache et al., 2011).

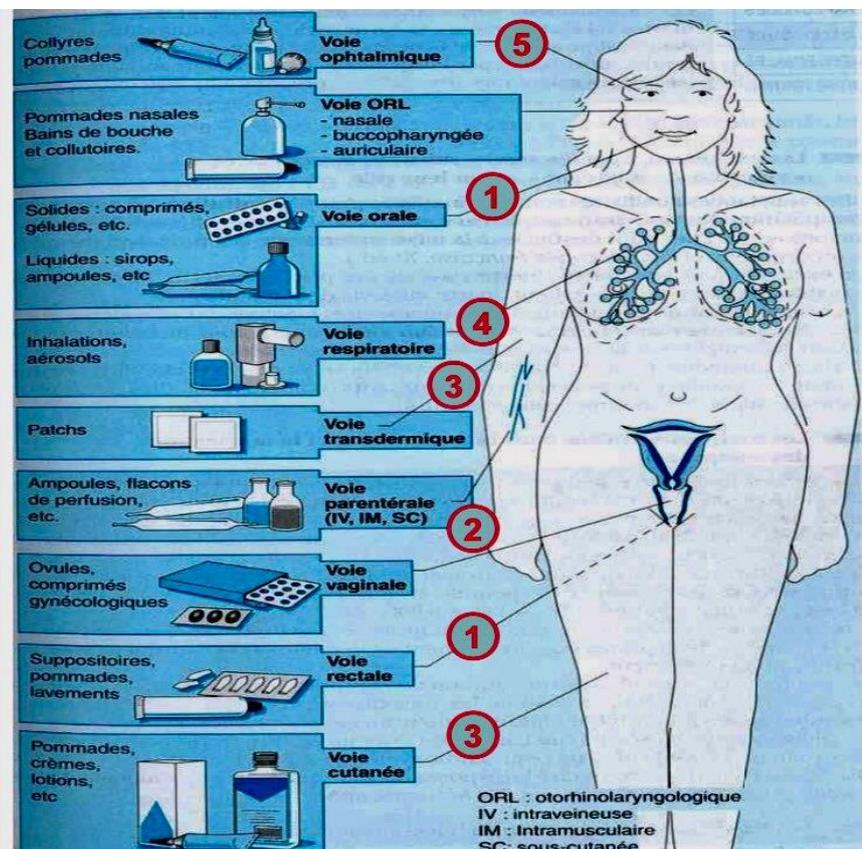


Figure 2 : Les différentes voies d'administration et leurs formes galéniques associées (Prouchandy, 2018)

I.1.7. Les comprimés

I.1.7.1. Définition

Selon la **PE 2017**, les comprimés sont des préparations solides contenant une unité de prise d'une ou plusieurs substances actives. Ils sont obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particule ou par un autre procédé de fabrication approprié tel que l'extrusion, le moulage ou la cryodessiccation (lyophilisation). Les comprimés sont destinés à la voie orale, certains sont avalés ou croqués, d'autres sont dissous ou doivent séjourner dans la bouche pour y libérer la substance active.

Plusieurs catégories de comprimés peuvent être distinguées :

Les comprimés enrobés, non enrobés, à libération modifiée, gastro résistants, effervescents, solubles, dispersibles, orodispersibles, oraux, à croquer et à utiliser dans la cavité buccale.

I.1.7.2. Avantages et inconvénients

Les avantages et les inconvénients sont présentés dans le tableau I.

Tableau I : Les avantages et les inconvénients des comprimés (Yekpe, 2014).

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none">• Dosage par unité de prise précis.• Emploi facile.• Masquage de goût désagréable des matières premières grâce à l'enrobage.• Une bonne conservation.• Utilisation de substances non-hydrosolubles.• Prix de revient peu élevé (exception des lyophilisats).• Procédé de fabrication connus et contrôlé par les industries.	<ul style="list-style-type: none">• Irritation de la muqueuse du tractus gastro-intestinal du patient.• Utilisation de grande variété de poudres pharmaceutiques.• Interaction des matières premières.

I.1.8. Les vitamines

Les vitamines sont des composés organiques sans valeur énergétique, essentielles pour les processus métaboliques, non synthétisé par l'organisme (hormis vit D et K), elles sont donc apportées par l'alimentation. Leurs faibles apports entraînent des maladies graves souvent mortelles comme la xérophtalmie, pellagre, béribéri, l'anémie.

Les vitamines sont classées en deux familles selon leurs solubilités :

- 1) Les vitamines liposolubles (stockées dans l'organisme) : Vit A, D, E et K.
- 2) Les vitamines hydrosolubles (solubles dans l'eau) : Vit du groupe B et la vit C (**Cano et al., 2007**).

I.1.9. Anémie mégaloblastique

Anémie mégaloblastique est une anémie macrocytaire arégénérative provient d'une anomalie de la division cellulaire par l'altération de la biosynthèse d'ADN, due à une carence en folates, ce qui provoque des érythroblastes de grandes tailles, elle est caractérisée par un volume globulaire moyen $VGM > 110\mu\text{m}^3$ chez l'adulte. C'est une anémie curable (Calop et al., 2008).

L'anémie macrocytaire est caractérisée par la présence d'un lymphocyte avec un noyau arrondi et volumineux, ainsi que la polysegmentation des neutrophiles à plus de cinq lobes (figure 03).

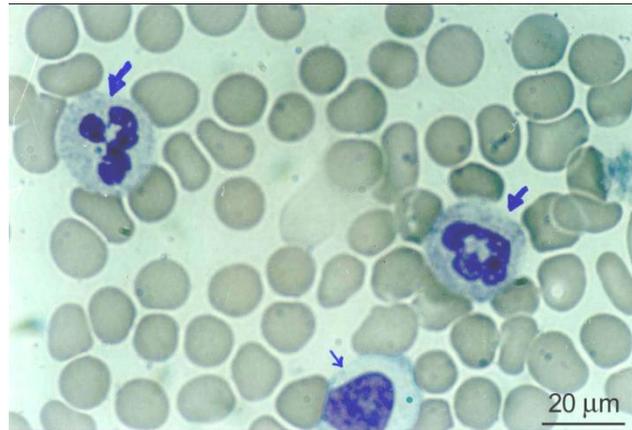


Figure 3 : Frottis sanguin d'une patiente atteinte d'anémie macrocytaire (Houcher et al., 2004)

I.1.10. Les médicaments antianémiques

Ce sont des médicaments capables de stimuler l'érythropoïèse jusqu'à normaliser le nombre des globules rouges circulants et le taux d'hémoglobine, ils perfectionnent la captation et le transport de l'oxygène par l'hémoglobine des globules rouges (Stora, 2010).

Exemple : traitement de l'anémie avec le médicament ZANITRA[®] 5mg.

I.2. ZANITRA[®] 5mg

I.2.1 Présentation du médicament

C'est un médicament antianémique sous forme de comprimés lisses de couleur jaune sous plaquettes thermoformées (figure 05) conditionnées dans des boîtes de 60 unités de prises (figure 04). ZANITRA[®] est le nom commercial dont l'acide folique est la substance active dosée à 5mg.



Figure 4 : Etui de ZANITRA®5mg
(Photo originale, 2022)

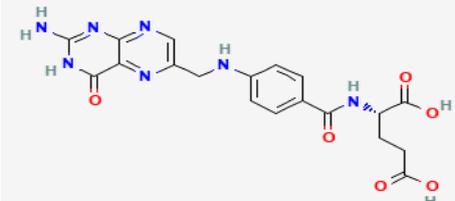
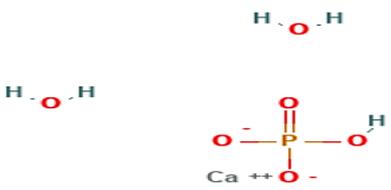
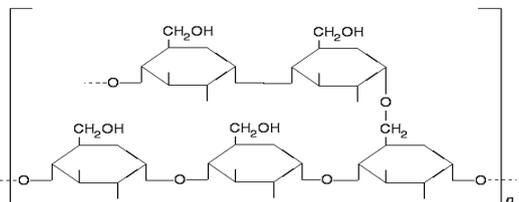
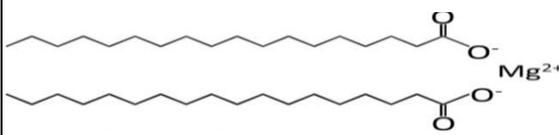


Figure 5 : Plaquette thermoformée de ZANITRA®5mg (Photo originale,

I.2.2. Composition

Le médicament ZANITRA® 5mg est composé d'un seul principe actif « acide folique » et de trois excipients : phosphate bicalcique, amidon de maïs et le stéarate de magnésium, comme il est indiqué dans le tableau II

Tableau II : Composition du médicament ZANITRA® 5mg

Matières premières	Rôle	Formule moléculaire	Structure chimique
Acide folique	Principe actif Effet thérapeutique	$C_{19}H_{19}N_7O_6$	 <p>(Centre national d'information sur la biotechnologie, 2022)</p>
Phosphate bicalcique	Diluant Désintégrant	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	 <p>(Centre national d'information sur la biotechnologie, 2022)</p>
Amidon de maïs	Diluant Liant Agent de désagrégation	$C_6H_{10}O_5$	 <p>(Della Valle, 2017)</p>
Stéarate de Magnésium	Lubrifiant antifriction Donne un aspect brillant et lisse aux comprimés	$C_{36}H_{70}MgO_4$	 <p>(Hobbs et al., 2016)</p>

I.2.2.1. Présentation du principe actif

❖ Acide folique (C₁₉H₁₉N₇O₆)

Caractère

Aspect : poudre cristalline jaunâtre ou orangée.

Solubilité : insoluble dans l'eau et les solvants organiques et soluble dans les acides dilués et dans les solutions alcalines.

I.2.2.2. Présentation des excipients

❖ Phosphate bicalcique

Caractère

Aspect : poudre cristalline jaunâtre ou orangée.

Solubilité : insoluble dans l'eau et les solvants organiques, soluble dans les acides dilués et dans les solutions alcalines.

❖ Amidon de maïs

Caractère

Aspect : poudre d'un blanc mat à faiblement jaunâtre, très fine, qui crisse sous la pression des doigts.

Solubilité : insoluble dans l'eau froide et dans l'éthanol à 96%.

La présence de grains possédant des fentes ou des irrégularités sur leur bord est exceptionnelle.

❖ Stéarate de magnésium

Caractère

Aspect : poudre blanche, très fines, légère, onctueuse au toucher.

Solubilité : quasiment insoluble dans l'eau et dans l'éthanol anhydre.

I.2.3. Acide folique

Acide ptéroylmonoglutamique ou vitamine B₉, composé d'un noyau ptéridine lié par un chaînon monocarboné (CH₂) à l'acide para-amino-benzoïque (PABA), ce dernier est lié à une molécule d'acide glutamique (figure 06).

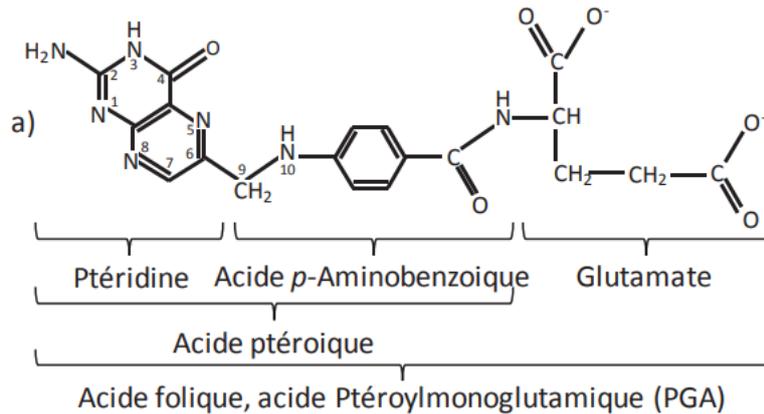


Figure 6 : Structure de l'acide folique (Saubade, 2016)

Il est présent dans les légumes verts, les fruits sec, céréales, le foie et dans le jaune d'œuf (Duployez, 2020). Ses réserves dans l'organisme sont faibles, rapidement épuisables, et les besoins sont importants (200µg/j) (Varet, 2012).

I.2.3.1. Pharmacodynamie

L'acide folique joue un rôle dans la synthèse des bases puriques (A et G), thymidylate (essentielle à la synthèse d'ADN), le métabolisme des acides aminés (sérine, glycine, histidine, acide glutamique) et formation de méthionine à partir de l'homocystéine (figure 07). (Duployez, 2020).

Il est indispensable à la division cellulaire et aux systèmes de renouvellement comme les muqueuses, les cellules sanguines, embryon et fœtus (Haida et al, 2010).

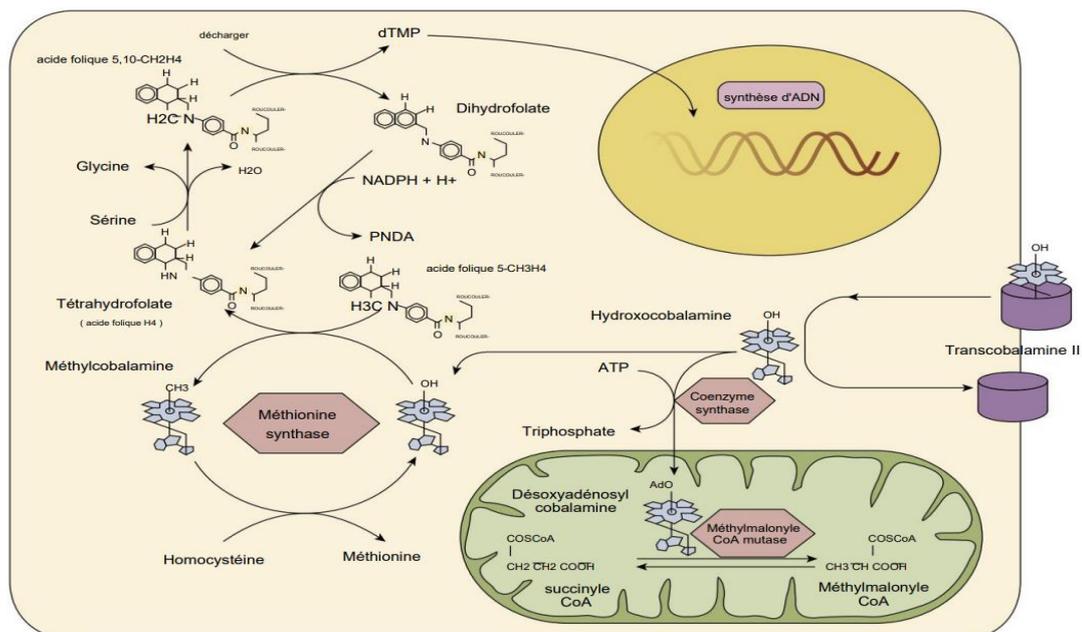


Figure 7 : Principales voies du métabolisme des folates (Dowd et al., 2017)

I.2.3.2 Pharmacocinétique

Le devenir de l'acide folique dans l'organisme s'articule en quatre étapes :

❖ Absorption

Elle se fait tout au long de l'intestin grêle, après déconjugaison des polyglutamates grâce à la Folate Hydrolase (FOLH1) présente au niveau de la bordure en brosse des entérocytes, les monoglutamates sont absorbés principalement dans le jéjunum soit par :

- Un transport actif qui dépend du pH du milieu.
- Diffusion passive lorsque la concentration en acide folique $>10\mu\text{M}$ (Lévy *et al.*, 2008).

L'acide folique est rapidement absorbé (5 à 20 minutes), le pic sérique est observé 1 à 2 heures après l'absorption (Dictionnaire SAIDAL, 2005).

❖ Distribution

Selon Scaglione et Panzavolta, (2014), L'acide folique est réduit et méthylyé en composé actif 5-méthyltétrahydrofolate (figure 08) par l'action de l'enzyme méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), et traverse la barrière intestinale pour passer dans le sang portal (Dowd *et al.*, 2017).

Dans le plasma, le 5-méthyltétrahydrofolate se fixe sur deux protéines distinctes :

- **L'albumine** : un ligand de faible affinité aux folates.
- **Folates Binding Proteins soluble (S-FBP)** : grande affinité aux folates, capable de se lier à la membrane cytoplasmique de différents tissus (Haida *et al.*, 2010).

Le taux sérique moyen est de 5 à 12 ng/ml (Vidal, 2022).

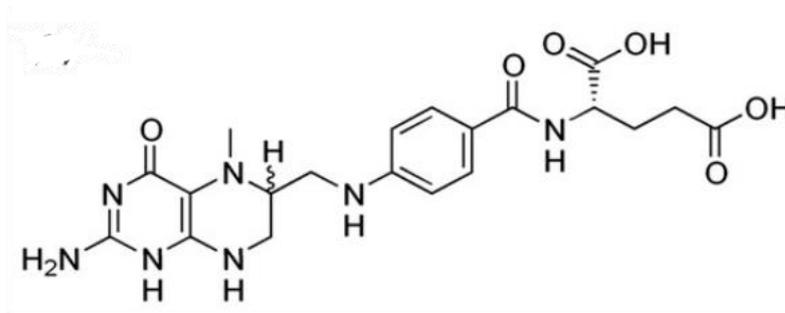


Figure 8 : Structure du 5-méthyltétrahydrofolates (Scaglione et Panzavolta, 2014)

❖ Métabolisme

Le 5méthyl tétrahydrofolate sera ensuite acheminé dans le foie puis redistribué aux tissus périphérique ou recyclé en suivant le cycle entérohépatique.

Au niveau cellulaire, le 5-méthyltétrahydrofolate pénètre dans le cytoplasme des cellules grâce à deux récepteurs (reduced folate carrier et folate receptor) par endocytose.

Il sera déméthylé en tétrahydrofolate qui à son tour subit une polyglutamination afin d'améliorer l'affinité des folates pour les différents enzymes (**Preynat, 2009**).

❖ **Elimination** : elle est urinaire et fécale (**Lévy et al., 2008**).

Les étapes de la pharmacocinétique sont résumées dans la figure 09.

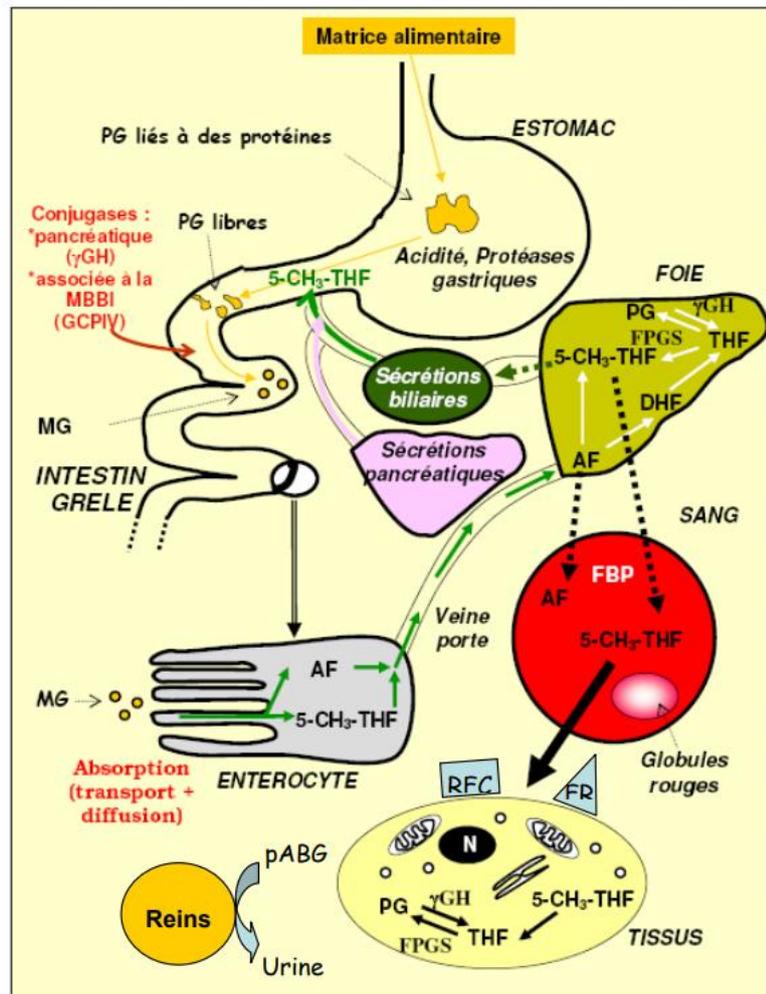


Figure 9 : Absorption, distribution, et élimination des folates (**Preynat, 2009**)

I.2.3.4. Indications :

- ✓ Anémie macrocytaire par carence en acide folique.
- ✓ Troubles chroniques de l'absorption intestinale quelle que soit leur origine.
- ✓ Carences d'apport : malnutrition, éthylysme.
- ✓ Grossesse en cas de carence prouvée.
- ✓ Chez les femmes ayant déjà eu des enfants porteurs d'anomalies de la fermeture du tube neural (spina bifida) (**Dictionnaire S Vidal, 2005**). Les mutations génétiques impliquées dans le développement de cette anomalie interfèrent avec le métabolisme de l'acide folique ce

qui provoque une déficience de ce dernier, en effet une prescription en quantité supérieure à l'apport normal d'acide folique durant la période péri conceptionnelle diminue le risque d'anomalie de la fermeture du tube neurale AFTN (Couture et *al.*, 2001).

I.2.3.5. Contre-indications :

Allergie à l'un des constituants. (Dictionnaire Sidal, 2005).

I.2.3.6. Posologie et mode d'administration

Les posologies journalières sont comprises entre 5 et 15mg, soit 1 à 3 comprimés par jour (Dictionnaire Sidal, 2005).

I.2.3.7. Interaction médicamenteuse

Phénobarbital, phénytoïne, primidone : diminution des concentrations plasmatiques des anticonvulsivants inducteurs enzymatiques, par augmentation de leur métabolisme hépatique dont l'acide folique représente l'un des cofacteurs (Dictionnaire Sidal, 2005).

I.2.3.8. Effets indésirables

Très rares cas de réactions allergiques cutanées.

Possibilité de troubles gastro-intestinaux (Dictionnaire Sidal, 2005).

I.2.3.9. Surdosage

Un apport excessif d'acide folique est suivi d'une augmentation de l'élimination urinaire (Dictionnaire Sidal, 2005).

I.3. Contrôle de qualité d'un médicament

I.3.1. Définition de la qualité

Selon la norme internationale standard organisation **ISO**, « Ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites » (Alioua, 2012).

I.3.2. Assurance de la qualité

C'est l'ensemble des mesures préétablis et systématiques destinés à assurer que les médicaments fabriqués destinés à l'usage sont sans danger, efficaces et acceptables.

Elle comprend le control des matières premières, les bonnes pratiques de fabrication et le contrôle du produit fini (**Le Hir et al., 2009**).

I.3.3. Bonnes pratiques de fabrication

Selon l’OMS, les bonnes pratiques de fabrication sont définies comme suit : « un des éléments de l’assurance de la qualité ; elles garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon uniforme et selon des normes de qualité adaptées à leurs utilisations et spécifiées dans l’autorisation de mise sur le marché (AMM) »

I.3.4. Autorisation de mise sur le marché

Selon l’OMS, c’est un document juridique délivré par les autorités de réglementation pharmaceutique compétentes et autorisant la commercialisation ou la distribution gratuite d’un produit pharmaceutique dans le pays concerné, après évaluation de son innocuité, de son efficacité et de sa qualité.

Ce document établit :

- La composition détaillée et la formulation du produit pharmaceutique.
- Les exigences de qualité pour le produit pharmaceutique et ses composants.
- Les informations relatives au conditionnement, l’étiquetage, conditions de conservation, la durée de vie et aux conditions d’utilisations approuvées (**OMS, 2010**).

Le dossier complet de demande d’AMM comprend quatre parties :

Pharmaceutique (galénique et analytique) ;

Toxicologique ;

Pharmacologique ;

Clinique (**Le Hir et al., 2009**).

I.3.5. Définition de contrôle

Il consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d’une entité et à comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies (**Le Hir et al., 2009**).

I.3.6. Contrôle de qualité

Toute mesure prise incluant la mise au point de spécifications, l’échantillonnage, l’analyse, et le traitement des données analytiques, afin de confirmer que les matières premières, les produits intermédiaires, les articles de conditionnement et le produit pharmaceutique final soient conformes aux spécifications établies (**Kouassi, 2020**).

Les référentiels pour le contrôle de qualité d'un médicament sont soit la pharmacopée, soit la partie pharmaceutique du dossier d'AMM qui renferme les spécifications du lot prototype de ce médicament (**Koissi, 2008**).

I.3.7. Différents types de contrôle de qualité :

a) Contrôle physicochimique

Il se fait sur :

- Les matières premières afin de les identifier et de les caractériser avant leurs intégrations au processus de production : pureté, concentration, teneur en eau, ... etc.
- Le produit fini après le conditionnement : essai de dissolution, essai de la masse moyenne, essai de dosage du principe actif, essai de friabilité, essai d'uniformité de teneur (**Ragued et Guerch, 2019**).

b) Contrôle microbiologique

La présence de certains micro-organismes dans les médicaments peut réduire ou annuler l'effet thérapeutique du produit et constitue un danger potentiel pour la santé du patient (**Boutefnouchet et al., 2020**).

Les techniques du control microbiologique sont mises en œuvre pour vérifier l'efficacité de la conservation microbienne ainsi que dans le cadre de la surveillance du niveau de qualité des matières premières, l'eau purifiée utilisée dans le nettoyage du matériel de productions et le produit fini.

Ce sont des essais permettant le dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et les levures capables de se développer en aérobiose (**Roché et Niel, 2006**).

I.3.8. Procédé de fabrication de ZANITRA® 5mg

Le procédé de fabrication doit être conforme aux normes générales spécifiées dans les bonnes pratiques de fabrication. Tout au long de la fabrication, la réalisation des étapes critiques doit être vérifiée par des méthodes de contrôle pour garantir l'efficacité de chaque étape.

Les étapes de fabrication de ZANITRA® 5mg sont résumées dans l'organigramme suivant :

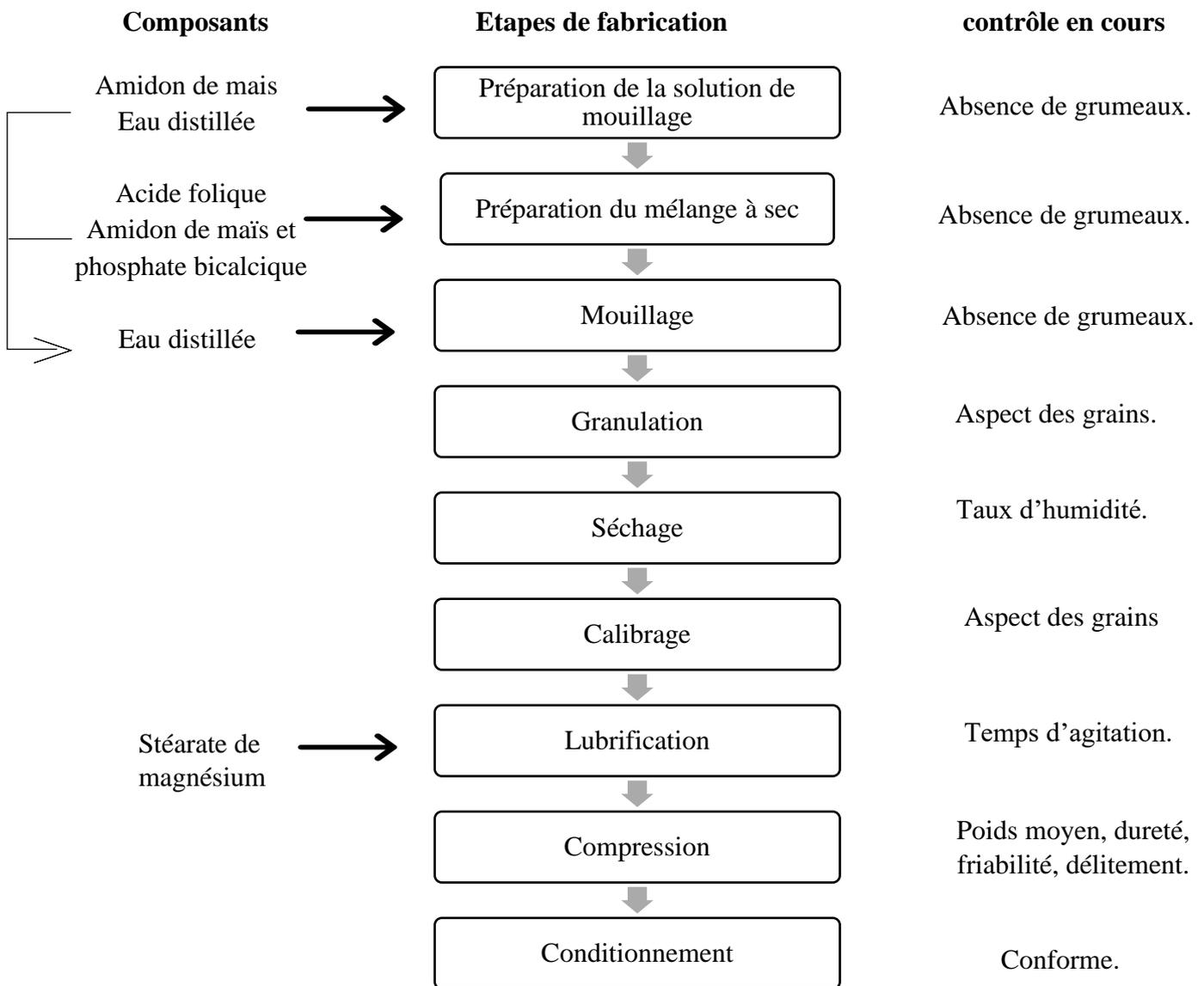


Figure 10 : Procédé de fabrication de ZANITRA®5mg

Matériels
et
Méthodes

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire de control de qualité au niveau de l'unité BIOTIC de Sidal (Gué de Constantine) durant une période s'étalant de la fin du mois de février jusqu'à la fin du mois d'avril 2022 soit une durée totale de deux mois dont l'objectif :

Consiste à contrôler la conformité d'un comprimé non obligatoirement stérile ZANITRA[®] 5mg du point de vue physico-chimique et microbiologique.

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériels

- Appareils, réactifs et verrerie (voir annexe 01).
- Matières utilisées :

Prince actif : acide folique.

Excipient : phosphate bicalcique.

Produit fini : comprimé de ZANITRA[®] 5mg.

II.2. Méthodes

II.2.1. Echantillonnage

Les matières premières

Le prélèvement est effectué à l'aide d'une spatule stérile à partir des sacs en plastiques propre contenant 100g de matière, étiquetés avec le numéro de lot et le numéro d'enregistrement, la notion de date de prélèvement et de péremption, le nom de la matière ainsi du fournisseur.

Le produit fini

Pour le contrôle physicochimique, le prélèvement est réalisé dès la fin de la production, les boites sont prises au hasard à partir du magasin de stockage.

Pour le contrôle microbiologique, les comprimés sont prélevés au début, au milieu et à la fin de la production.

II.2.2. Contrôle physicochimique

II.2.2.1 Matières premières :

A. Principe actif : acide folique

Le Protocole suivi et les techniques utilisées sont celles recommandées par la **Pharmacopée Européenne (2017)**.

Le principe actif est présenté dans la figure 11.



Figure 11 : Acide folique (Photo originale, 2022)

A.1. Caractères

Ces essais consistent à déterminer la forme, l'aspect, la couleur et la solubilité de la substance à examiner dans les différents solvants.

A.1.1. Aspect

Consiste à une vérification visuelle de la substance à examiner.

A.1.2. Solubilité

- **Principe**

C'est la quantité maximale d'un composé que l'on peut dissoudre dans un volume de solution à une température et une pression donnée. La solubilité est l'interaction spontanée de deux substances ou plus pour former une dispersion moléculaire homogène (Wehrlé, 2007).

- **Mode opératoire**

On introduit séparément 50mg de l'acide folique dans quatre tubes séparément.

On ajoute 10ml : d'eau dans le premier tube, chloroforme dans le deuxième tube, acide chlorhydrique (HCL) dilué R dans le troisième tube et hydroxyde de sodium (NAOH) 0.1N dans le quatrième tube.

On agite à l'aide d'un vortex et on observe à l'œil nu le degré de solubilité.

A.2. Test d'identification

A.2.1. Détermination du pouvoir rotatoire

- **Principe**

Toute molécule chirale provoque une rotation dextrogyre ou lévogyre du plan de la lumière polarisée qui la traverse. Cette activité optique est quantifiée par l'angle de déviation de la lumière polarisée que l'on mesure à l'aide d'un polarimètre (Depovere, 2005).

- **Mode opératoire**

On dissout 0.25g d'acide folique dans une solution d'hydroxyde de sodium R à 4.2g/L et on complète à 25ml avec la même solution.

On effectue un essai à blanc avec l'hydroxyde de sodium.

Après agitation, on met la solution à examiner dans la cellule du polarimètre.

La lecture est faite par la stabilité de l'angle de rotation, le pouvoir rotatoire est ensuite calculé par la formule suivante :

$$\text{Pouvoir rotatoire} = \frac{\alpha \times V \times 100}{P_e \times (100 - T_e)}$$

Avec :

α : l'angle de rotation en degré

V : le volume du solvant (ml).

P_e : la prise d'essai de l'acide folique (g).

T_e : la teneur en eau (%)

Limite : +18 à +22.

A.3. Essai

A.3.1. Dosage par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance est une technique d'analyse qui permet d'identifier, séparer et quantifier en phase liquide, des constituants présents dans des mélanges variés. Les molécules à séparer sont entraînées par un liquide (la phase mobile) à travers une colonne (la phase stationnaire) (Gana, 2015).

- **Principe**

La phase mobile est poussée par une pompe sous haute pression, et passée à travers le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution sont alors répartis selon leurs affinités entre les deux phases. Les différents solutés sont caractérisés par des pics en sortie de colonne à l'aide d'un détecteur approprié (figure 12). L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (Colomb, 2010).

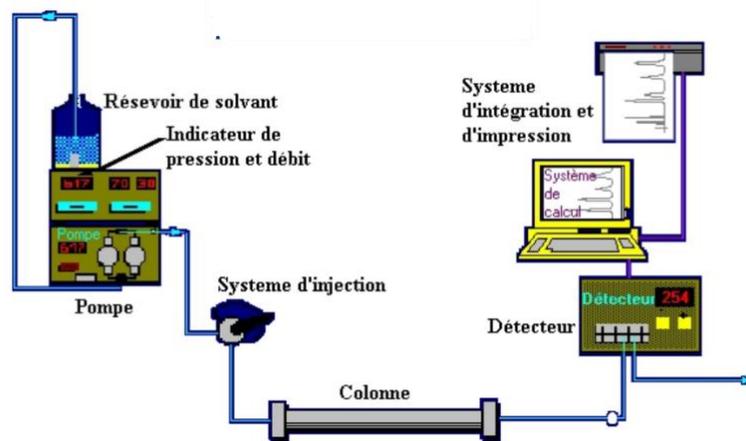


Figure 12 : Principe d'une chaîne HPLC (Colomb, 2010)

- **Mode opératoire**

Solution A : solution de carbonate de sodium R à 28,6 g/L.

Préparation de la solution à examiner

On dissouts 50mg d'acide folique dans 2.5ml de solution A et on complète à 50ml avec la phase mobile.

On prélève 2ml de cette solution et on complète à 10ml avec la phase mobile.

Préparation de la solution témoin (a)

On dissouts 50mg d'acide folique SCR dans 2,5ml de solution A et on complète à 50ml avec la phase mobile.

On prélève 2ml de cette solution et complète à 10ml avec la phase mobile.

Préparation de la phase mobile

On mélange 12volumes de méthanol R et 88 volumes d'une solution contenant 11,16 g/L de phosphate monopotassique R et 5,50g/L de phosphate dipotassique R.

Conditions chromatographiques :

Colonne :

- Dimensions : $l = 0,25\text{m}$ $\varnothing = 4\text{mm}$
- Phase stationnaire : gel de silice octylsilylé pour chromatographie R ($5\mu\text{m}$) à particules sphériques.

Débit : 0,6 ml/min.

Détection : spectrophotomètre à 280 nm.

Injection : 5µL de solution à examiner.

Temps de rétention : 8min.

La phase mobile a été placée sur la porte à solution en dessus de l'appareil, puis attachée au tube approprié de la phase mobile.

La colonne a été placée dans le système HPLC.

Les vials 1 et 2 ont été remplis avec la solution témoin (a) en multiples injections et la vial 3 a été remplie avec la solution à examiner, puis l'ensemble a été placé dans le carrousel de l'HPLC.

Les résultats ont été obtenus via le logiciel Empower™ 3.

La dose de l'acide folique est calculée par la formule suivante :

$$\text{AF \%} = \frac{A_e}{A_t} \times \frac{P_e T}{P_e E} \times \frac{100 - T_e T}{100 - T_e E} \times T_e$$

Avec :

AF % : pourcentage de l'acide folique (%).

Ae : surface du pic de l'acide folique obtenu avec la solution témoin.

At : surface du pic de l'acide folique obtenu avec la solution à examiner.

Pt : prise d'essai du témoin (g).

Pe : prise d'essai (g).

TeT : teneur en eau du témoin (%).

TeE: teneur en eau de l'essai (%).

Te : titre.

Limites : 96% à 102%.

A.3.2. Cendres sulfuriques

- **Mode opératoire**

On chauffe un creuset en silice dans un four à moufle à 600°C pendant 30min, on laisse refroidir dans un dessiccateur et on pèse le creuset vide, ensuite on introduit 1g d'acide folique dans le creuset vide et on mouille la substance à examiner avec quelques gouttes d'acide sulfurique pure (généralement 1ml). On place l'ensemble dans un minéralisateur jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches puis on calcine à 600°C jusqu'à incinération complète

du résidu. Après ce temps on pèse à nouveau le creuset après refroidissement dans le dessiccateur. On calcule le pourcentage du résidu.

Le taux de cendres sulfuriques est calculé selon la formule suivante :

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

Avec :

Cs% : pourcentage des cendres sulfuriques (%).

Pf : poids du creuset final (g).

Pv : poids du creuset vide (g).

Pe : prise d'essai (g).

Limites : au maximum 0, 2%.

B. Excipient : Calcium hydrogenophosphate dihydrate (phosphate bicalcique)

Les méthodes de contrôle sont celles préconisées par la **pharmacopée européenne 2017**.

L'excipient est présenté dans la figure 13.

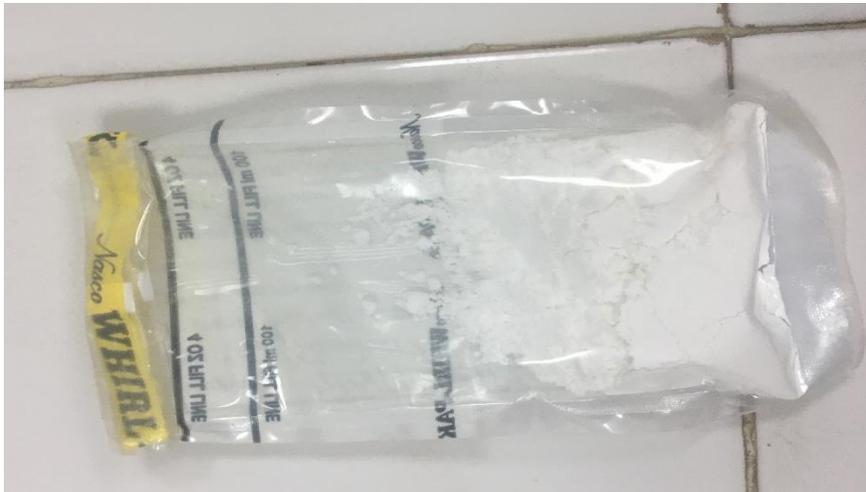


Figure 13 : Phosphate bicalcique (Photo originale, 2022)

B.1. Caractère

- **Aspect**

Consiste à une vérification visuelle de la substance à examiner.

- **Solubilité**

On introduit 50mg de phosphate bicalcique dans trois tubes à essais.

On ajoute 10ml : d'eau dans le premier tube, de l'acide chlorhydrique dilué R (HCL) dans le deuxième tube et l'acide nitrique (HNO₃) dans le troisième tube.

On agite les trois tubes à l'aide d'un vortex.

La lecture est effectuée par un simple examen visuel.

B.2. Identification

On dissout 0,1g de phosphate bicalcique dans 5ml d'acide nitrique dilué R, on ajoute 2ml de solution de molybdate d'ammonium R et on chauffe à 70°C pendant 2min.

Après refroidissement il se forme un précipité jaune.

B.3. Essai

B.3.1. Substances insolubles dans l'acide

Dans un erlenmeyer, 5g de phosphate bicalcique ont été dissous dans 40ml d'eau R puis 10ml d'acide chlorhydrique R ont été ajoutés, l'ensemble a été chauffé à ébullition pendant 5min sur une plaque chauffante. Après refroidissement, une filtration est nécessaire en utilisant un papier filtre sans cendre, la solution de nitrate d'argent R2 a été ajoutée au filtrat et les substances insolubles présentes sur le papier filtre sans cendres ont été lavées à l'eau R. Cette étape a été répétée jusqu'à ce que l'addition de la solution de nitrate d'argent R2 au filtrat ne produise plus de troubles, les substances insolubles ont été calcinées à 600°C ± 5.

Limites : la masse du résidu est au maximum de 10mg

B.3.2. Carbonates

La lecture est effectuée par une observation visuelle de la solution à examiner.

B.3.3. Chlorures

Après 5min on compare la solution analysée avec la solution témoin par un simple examen visuel.

Limites : maximum 0,25%.

B.3.4. Sulfates

On compare la solution à examiner avec la solution témoin par une observation à l'œil nu après 10min.

Limites : maximum 0,5%.

B.3.5. Fer

On compare le degré de coloration de la solution analysée avec la solution témoin par un examen visuel.

Limites : maximum 400ppm.

B.3.6. Perte à la calcination

- **Principe**

La perte à la calcination est déterminée par chauffage à masse constante dans un four à 800-835°C sur 1g de substance à examiner.

- **Mode opératoire**

On procède à placer le creuset en silice préalablement desséché dans un dessiccateur pendant 15min.

On pèse le creuset vide puis on pèse 1g de phosphate bicalcique dans le creuset taré et après cela, on calcine à l'aide d'un four à moufle à 800°C pendant 3h.

Après refroidissement pendant 15min dans un dessiccateur on pèse le creuset.

Le pourcentage à la perte à la calcination est calculé par la formule suivante :

$$\text{Perte à la calcination \%} = \frac{(P_v + P_e) - P_f}{P_e} \times 100$$

Avec :

P_c : perte à la calcination (%).

P_v : Poids du creuset vide (g).

P_f : poids du creuset final (g).

P_e : prise d'essai (g).

Limites : 24,5 % à 26,5%.

B.3.7. Dosage

- **Principe**

Le dosage se fait par un titrage complexométrique, dont le principe est issu de la compétition entre un indicateur coloré le mordant noir et l'édétate de sodium. Le point d'équivalence est déterminé lors du changement net de la couleur de la solution par le mordant noir.

- **Mode opératoire**

Préparation de la solution à examiner

Dans une fiole de 200ml on dissout 0,4g de phosphate bicalcique dans 12ml d'acide chlorhydrique dilué R en chauffant au bain-marie et on complète avec de l'eau R jusqu'au trait de jauge.

On prélève 20ml de cette solution et on ajoute dans un erlenmeyer 25ml d'édétate de sodium 0,02M, 50ml d'eau R, 5ml de solution tampon chlorure d'ammonium pH 10,7 R et 25mg de mélange composé au mordant noir 11 R.

On titre par le sulfate de zinc 0,02M (1ml d'édétate de sodium 0,02M correspond à 3,44mg de $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et on détermine le point de titrage.

Préparation de la solution témoin

Le témoin est préparé dans les mêmes conditions en ajoutant que les réactifs à l'exempt du phosphate bicalcique.

Le taux de dosage est calculé par la formule suivante :

$$Dg (\%) = \frac{(Vt - Ve) \times Ct}{Pe}$$

Avec :

Dg : dosage (%).

Vt : volume du témoin (ml).

Ve : volume de l'essai (ml).

Ct : correspondance (3,44mg).

Pe : prise d'essai.

Limites : 98% à 105%.

C. Contrôle du Produit fini

C.1. Caractères

- **Aspect**

L'aspect et la couleur sont déterminées par un simple examen visuel.

C.2. Identification du principe actif

Identification du principe actif « acide folique hydraté » par spectrophotométrie d'absorption dans l'UV-Visible.

Dans une fiole de 100ml, on dissout exactement 200mg de poudre de comprimé avec l'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1N et on complète jusqu'au trait de jauge avec le même solvant.

Après filtration, on réalise une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ avec le NaOH.

On mesure l'absorbance de la solution à examiner à deux longueurs d'onde : 256nm et 365nm, ensuite on calcule le rapport :

$$\frac{A_{256}}{A_{365}}$$

Avec :

A₂₅₆ : absorbance à 256nm.

A₃₆₅ : absorbance à 365nm.

Limites : le rapport doit être compris entre 2,8 et 3.

C.3. Essai

C.3.1. Masse moyenne

A l'aide d'une balance analytique, on pèse 10 comprimés à la fois, ensuite on calcul la masse moyenne par la formule suivante :

$$MM = \frac{Pt}{10}$$

Avec :

MM : masse moyenne (mg).

Pt : poids total des 10 comprimés (mg).

Limites : 92,5mg à 107,5mg.

C.3.2. Uniformité de teneur

Selon **Djebar (2019)**, l'essai d'uniformité de teneur est basé sur la détermination de la teneur individuelle en principe actif des unités qui composent l'échantillon et de vérifier que les teneurs se trouvent dans les limites établies par rapport à la teneur moyenne de l'échantillon.

L'objectif de ce test est d'assurer que les comprimés contiennent une concentration semblable pour garantir au patient une dose constante en principe actif.

- **Principe**

Consiste à dissoudre 10 comprimés séparément dans un milieu adéquat et de doser la libération du principe actif à l'aide de technique de spectrophotométrie UV-Visible.

- **Mode opératoire**

Préparation de la solution à examiner

On introduit séparément un comprimé dans chacune des dix fioles de 20ml contenant l'hydroxyde de sodium 0,1N puis on place les fioles dans le bain à ultrason réglé à 23°C jusqu'à dissolution complète des comprimés.

On complète à 20ml avec le même solvant et on effectue une filtration à l'aide d'un papier filtre.

On effectue une dilution du filtrat obtenu de 1/100^{ème} avec le même solvant.

Préparation de la solution témoin

On dissout 100mg d'acide folique hydraté étalon de référence interne dans une fiole de 100ml avec l'hydroxyde de sodium 0,1N et on complète avec le même solvant jusqu'au trait de jauge.

On effectue une dilution de cette solution au 1/100^{ème} avec le même solvant.

On mesure l'absorbance de la solution témoin et les solutions à examiner des dix fioles en réglant le zéro de l'appareil avec le NaOH 0,1N.

La teneur en acide folique est calculée par la formule suivante :

$$\text{Teneur moyenne (mg/cp)} = \frac{\text{Ae} \times \text{Pt} \times \text{Te}}{\text{At} \times 20}$$

Avec :

Ae : Absorbance de la solution à examiner.

At : Absorbance de la solution témoin.

Pt : prise d'essai témoin (mg).

Pe : Prise d'essai de la solution à examiner (mg).

MM : Masse moyenne (mg).

Te : Titre l'acide folique étalon de référence interne.

$$\text{Teneur moyenne en \%} = \frac{\text{teneur moyenne en (mg/cp)} \times 100}{5}$$

Ensuite le VA est calculé par les formules suivantes selon la teneur moyenne en % obtenue :

- Si $98,5 \leq T \leq 101,5$ \longrightarrow $VA = 2,4 \times S$.

- Si $T \geq 101,5$ \longrightarrow $VA = T - 101,5 + 2,4 \times S$.

- Si $T \leq 98,5$ \longrightarrow $VA = 98,5 - T + 2,4 \times S$.

Avec :

T : teneur moyenne en %.

S : écart type.

Limites : $VA \leq 15\%$.

C.3.3. Friabilité

Par définition, la friabilité d'un comprimé est la tendance de ce dernier à perdre des particules de composants par abrasion, frottement ou choc mécanique.

Le test de friabilité permet de s'assurer que les comprimés présentent une résistance à des contraintes mécaniques suffisantes lors du processus de stockage, distribution et la manipulation par le client (Frederick et Changquan, 2015).

Un friabilimètre (figure 14) est constitué d'un tambour de diamètre inférieur de 283-291mm et d'une profondeur de 36-40mm en polymère synthétique transparent. L'une des faces du tambour est amovible. A chaque rotation, les comprimés roulent ou glissent du centre du tambour et tombent sur la paroi extérieure les uns sur les autres avec une vitesse de rotation de 25 ± 1 tr/min (Pharmacopée européenne 2017).

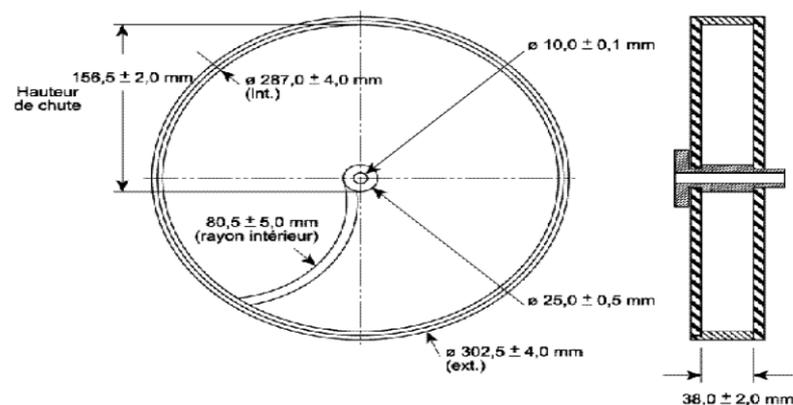


Figure 14 : Appareil de détermination de la friabilité des comprimés non enrobés (Koissi, 2008)

- **Principe**

Il consiste à soumettre une quantité précise de comprimés à une force de chute régulière pendant un temps donné afin de déterminer la perte de masse de ces comprimés (Nnanga et al., 2016).

- **Mode opératoire**

On pèse un nombre de comprimés entiers correspondant à une masse de 6,5g et on les place à l'intérieur du tambour.

On met le friabilimètre réglé à 100tour/4min en marche.

On récupère les comprimés et on les repese après avoir dépoussiéré.

La friabilité est calculée par la formule suivante :

$$F = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Avec :

F : friabilité (%)

P_i : le poids des comprimés avant le test (g).

P_f : le poids des comprimés après le test (g).

Limites : ≤1%.

C.3.4. Test de dissolution

Le test de dissolution permet de déterminer la quantité du principe actif dissous dans l'organisme en fonction du temps *in vitro* (Delalande et Ruiz, 2007).

- **Principe**

L'essai est réalisé sur six unités dans six vases et l'agitation est réalisée à l'aide d'une palette en métal ou autre matériau rigide et inerte approprié du dissolutest (figure 15), les échantillons seront ensuite analysés avec une technique analytique (spectroscopie ultraviolet- visible).

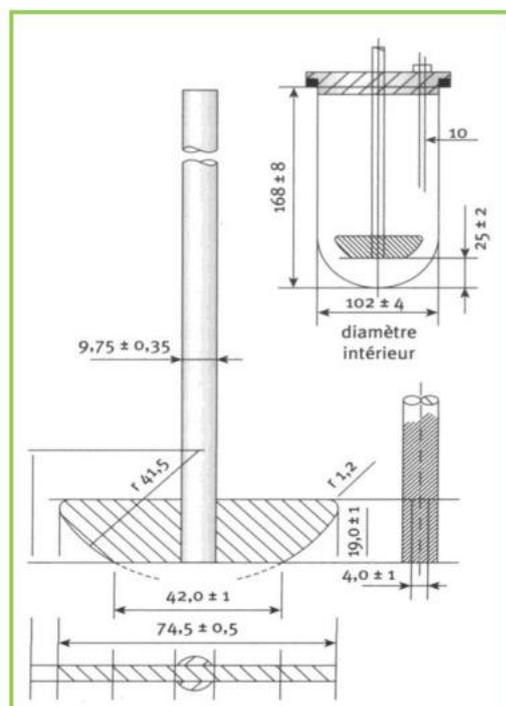


Figure 15 : Appareil dissolutest à palette (Pharmacopée européenne 2017)

- **Mode opératoire**

Conditions opératoires :

- **Appareil :** dissolutest.
- **Milieu :** tampon phosphate pH 7,5 (0,2M).
- **Volume du milieu :** 900mL.
- **Système :** palette.
- **Vitesse d'agitation :** 75trs/min.
- **Temps de dissolution :** 45min.
- **Température :** $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.
- **Longueur d'onde λ :** 280nm.

Réactifs :

Eau distillée.

Potassium phosphate monobasique (KH_2PO_4).

Hydroxyde de potassium (KOH).

Préparation de la solution tampon phosphate pH 7,5 (0,2M)

On dissout 27,22g de potassium phosphate monobasique dans 930ml d'eau, on ajuste le pH 7,5 avec la solution d'hydroxyde de potassium à 300g/L et compléter à 1000mL avec de l'eau.

Remarque :

Pour optimiser le temps, on prépare la solution tampon comme indiqué précédemment mais en diluant 163,32g de potassium phosphate monobasique dans 5L d'eau dans un jerrycan et on agite l'ensemble à l'aide d'un agitateur magnétique.

Après agitation, on ajuste le pH 7,5 de la solution avec la solution d'hydroxyde de potassium à 200g/L et complète à 6L avec de l'eau.

On remplit les six vases avec 900ml de la solution tampon phosphate à l'aide d'une éprouvette de 1000mL.

Préparation de la solution à examiner

On introduit un comprimé de ZANITRA® 5mg dans chaque vase contenant chacun la solution tampon et chauffé préalablement à 37°C puis on laisse en agitation pendant 45min.

Après ce temps, on prélève 5ml de la solution de chaque vase et on filtre à travers un filtre seringue de 0,45µm dans six tubes à essai.

Préparation de la solution témoin

Dans une fiole de 100mL on dissout 55,56mg d'acide folique hydraté étalon de référence interne avec la solution tampon phosphate pH 7,5 (0,2M) et on complète avec le même solvant jusqu'au trait de jauge.

Après agitation, on prélève 1ml de la solution précédente et on complète à 100mL avec le tampon phosphate pH 7,5 (0,2M). (La concentration de la solution témoin obtenue est de 0,005556mg/L).

On mesure l'absorbance de la solution témoin et la solution à examiner à 280nm en utilisant le milieu tampon phosphate pH 7,5 (0,2M) comme liquide de compensation.

La teneur en acide folique hydraté est donnée par la formule suivante :

$$Q\% = \frac{A_E \times P_T \times 1 \times 900 \times T_e}{A_T \times 100 \times 100 \times 5}$$

Avec :

A_E : Absorbance de la solution à examiner.

A_T : Absorbance de la solution témoin.

P_T : prise d'essai étalon de référence.

T_e : Titre de l'étalon de référence interne.

Limites : $\geq 75\%$ en 45minutes.

C.3.5. Dosage du principe actif « acide folique hydraté » dans le produit fini

Le dosage se fait par spectrophotométrie d'absorption UV/Visible

- **Principe**

Le principe de la spectrophotométrie d'absorption UV/Visible repose sur l'absorption du rayonnement monochromatique fourni par le spectrophotomètre UV/Visible (figure 16) par les molécules dans les régions de 200-800nm, l'appareil comprend un dispositif approprié à la mesure de l'absorbance (Di Benedetto et Breuil, 2019).

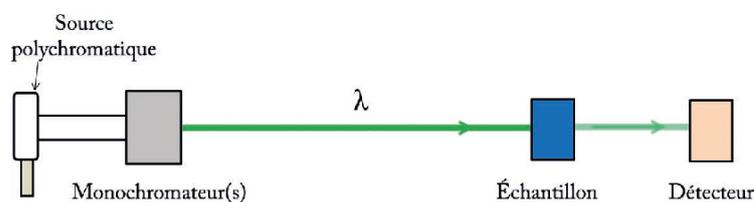


Figure 16 : Principe générale de spectrophotométrie d'absorption UV/Visible (Piard et Randon, 2021)

- **Mode opératoire**

Solvant :

Hydroxyde de sodium 0,1N

Préparation de la solution témoin

On dissout 100mg d'acide folique hydraté étalon de référence interne dans une fiole de 100ml avec l'hydroxyde de sodium 0,1N et on complète avec le même solvant jusqu'au trait de jauge.

On effectue une dilution de cette solution au 1/100^{ème} avec le même solvant.

Préparation de la solution d'essai

A l'aide d'un mortier on broie une quantité nécessaire des comprimés, ensuite on pèse exactement 200mg de poudre de comprimé.

Dans une fiole de 100ml on dissout la poudre dans l'hydroxyde de sodium 0,1N et on complète jusqu'au trait de jauge avec le même solvant.

Après filtration de la solution à l'aide d'un papier filtre, on effectue une dilution de cette solution au 1/10^{ème} avec le même solvant.

On mesure l'absorbance de la solution à examiner et la solution témoin à 256nm en utilisant l'hydroxyde de sodium 0,1N comme liquide de compensation.

La teneur en acide folique est donnée par la formule suivante :

$$Q = \frac{A_E \times P_T \times 100 \times 1 \times MM}{A_T \times P_E \times 10 \times 100} \times T_e$$

$$Q = \frac{A_E \times P_T \times MM}{A_T \times P_E \times 10} \times T_e$$

Avec :

Q : Teneur en acide folique (mg/cp).

A_E : Absorbance de la solution à examiner.

A_T : Absorbance de la solution témoin.

P_T : prise d'essai du témoin (mg).

P_E : Prise d'essai de la solution à examiner (mg).

Mm : masse moyenne.

T_e : Titre de l'acide folique étalon de référence interne.

Limites : 4,5 à 5,5 (mg/cp).

II.2.3. Contrôle microbiologique

Les méthodes utilisées pour le contrôle microbiologique de ZANITRA[®] 5mg sont celles préconisées par **la PE, 2017**.

L'analyse doit réaliser le contrôle de pureté microbienne par :

- A. Le dénombrement des germes aérobies viables totaux : bactéries, levures et moisissures.
- B. La recherche des microorganismes spécifiés : Escherichia coli.

A. Le dénombrement des germes viables totaux

Cet essai a pour but de déterminer la présence ou non des germes pathogènes dans un produit.

- **Mode opératoire**

Préparation de l'échantillon

A partir d'un mélange moyen des échantillons prélevés, on pèse presque 100 comprimés ce qui est équivalent de 10g de comprimés et on les dilue dans 90ml de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7 contenant du tween.

On homogénéise pour obtenir l'homogénéisât A, c'est la dilution 1/10 (10^{-1}).

On effectue une autre dilution au 1/10 à partir de l'homogénéisât A dans la même solution tampon pour obtenir la dilution 10^{-2} .

Recherche des bactéries**Ensemencement en profondeur**

On utilise des boîtes de pétri d'un diamètre de 90mm.

On introduit dans chacune d'elles 1mL de la dilution préparée de l'échantillon à contrôler.

On ajoute 15 à 20mL (à une température ne dépassant pas 45°C) d'un milieu gélosé aux peptones de caséine de soja liquéfiée.

On prépare au moins deux boîtes de pétri par dilution et par milieu.

On incube à 30-35°C pendant 5 jours.

- **Lecture**

On sélectionne les boîtes correspondant à une dilution et présentant le plus grand nombre de colonies inférieur à 300.

On fait la moyenne arithmétique des dénombrements des deux boîtes de la dilution sélectionnée.

On calcule le nombre de colonies ($\mu\text{FC/g}$) le nombre d'unité formant colonie par gramme de produit en multipliant par l'inverse de la dilution sélectionnée.

Recherche des levures et des moisissures

On utilise des boîtes de pétri d'un diamètre de 90mm.

On introduit dans chacune d'elles 1mL de la dilution préparée de l'échantillon à contrôler.

On ajoute 15 à 20mL (à une température ne dépassant pas 45°C) de milieu gélosé Sabouraud-glucose avec antibiotiques liquéfiée.

On prépare au moins deux boîtes de pétri par dilution et par milieu.

On incube à 20-25°C pendant sept jours.

- **Lecture**

On sélectionne les boîtes correspondant à une dilution et présentant le plus grand nombre de colonies inférieur à 100 et le dénombrement se fait de la même façon que les bactéries.

B. Recherche de micro-organismes spécifiés

Escherichia coli

Escherichia coli est un bacille à gram négative et un constituant majeur de la flore intestinale des mammifères. Elle est inoffensive et peut devenir un agent pathogène responsable de différentes infections sévères. La bactérie se développe sur gélose MacConkey et peut croître dans des conditions en aérobies ou anaérobies (**Joly Guillou, 2016**).

- **Mode opératoire**

Pré-enrichissement

A partir de l'homogénéisât A on prélève 10ml de l'échantillon ensuite on ajoute 100mL de milieu liquide aux peptones de caséine de soja.

Après homogénéisation, on incube à 35-37°C pendant 24h.

Enrichissement

Après ce temps, on agite le récipient puis on prélève 1ml à l'aide d'une pipette gradué et on ajoute 100ml du milieu liquide de MacConkey.

On incube à 43-45°C pendant 24h.

Isolement

Après ce temps, on effectue des subcultures sur milieu gélosé de MacConkey.

On incube à 35-37°C pendant 48h.

- **Lecture**

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

L'ensemble des méthodes effectuées lors du contrôle de qualité de ZANITRA® 5mg sont résumées dans la figure 17.

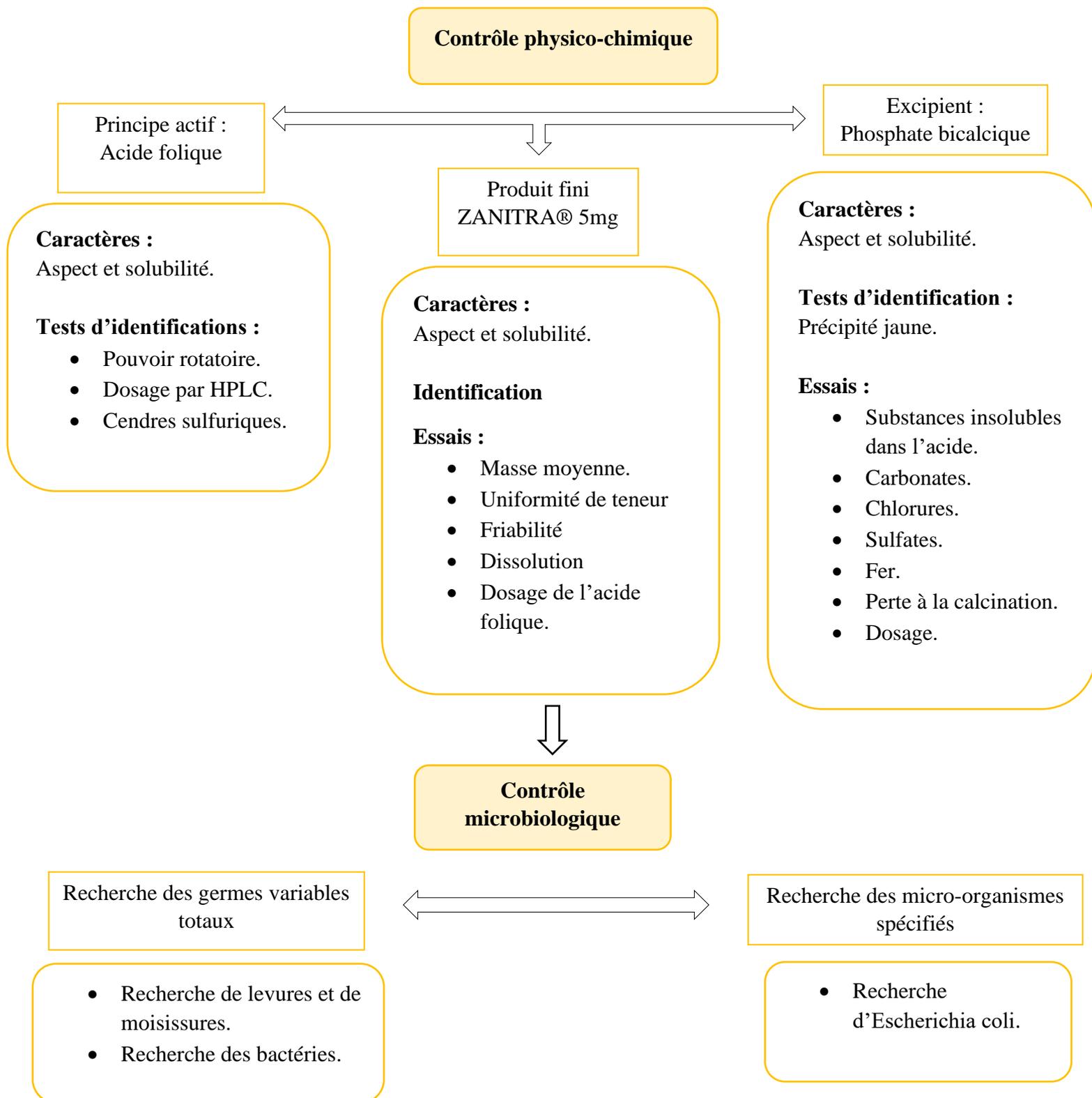


Figure 17 : Schéma récapitulatif des méthodes de contrôle de qualité physico-chimique et microbiologique de ZANITRA® 5mg

Résultats
Et
Discussions

III Résultats et discussions

Les résultats obtenus ont été comparés avec les normes en vigueur de la **pharmacopée européenne 2017** dont les textes (les monographies) définissent des exigences de qualités auxquelles doivent satisfaire les substances pharmaceutiques qui composent les médicaments.

III.1. Contrôle physicochimique

III.1.1. Contrôle physicochimique des matières premières

III.1.1.1. Contrôle physicochimique du principe actif Acide folique

Les résultats obtenus suite à un contrôle physicochimique du principe actif acide folique ont été présentés dans le tableau III. Ces résultats comprennent :

Les caractères organoleptiques : aspect et solubilité.

Les tests d'identifications : pouvoir rotatoire spécifique

Les essais : la chromatographie liquide à haute performance et cendres sulfuriques.

Tableau III : Résultats de contrôle physico-chimique de l'acide folique

	Test	Résultats	Normes (PE,2017)	Conformité
Caractères organoleptiques	Aspect	Poudre cristalline jaunâtre ou orangée	Poudre cristalline jaunâtre ou orangée	Conforme
	Solubilité dans : -L'eau -Chloroforme -Acide chlorhydrique dilué R -Hydroxyde de sodium 0,1N	-Insoluble -Insoluble -Soluble -Soluble	Insoluble dans l'eau et les solvants organiques. Soluble dans les acides dilués et les solutions alcalines	Conforme
Identification	Pouvoir rotatoire	20,23	+18 à +22	Conforme
Essais	Dosage par HPLC	99,4%	96% à 102%	Conforme
	Cendres sulfuriques	0,009%	<0,2%	Conforme

Le chromatogramme de la solution témoin obtenu lors de l'analyse HPLC de l'acide folique est représenté dans les figures 18

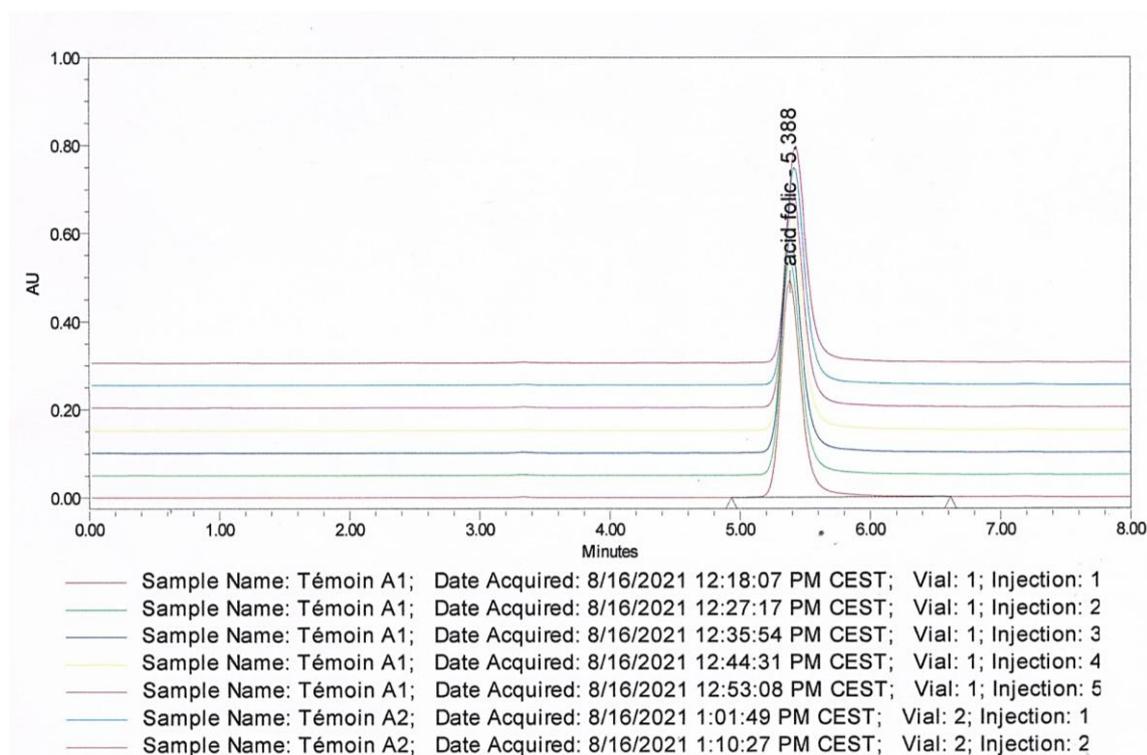


Figure 18 : Chromatogramme de témoin

Le résultat obtenu à partir du chromatogramme de la solution témoin de l'analyse de HPLC est présenté dans le tableau IV ci-dessous.

Tableau IV : Résultats de chromatographie de la solution témoin

	Nom de l'échantillon	Vial	Inj	Nom	Temps de rétention(min)	Surface
1	Témoin A1	1	1	Acide folique	5,388	5544052
2	Témoin A1	1	2	Acide folique	5,389	5538828
3	Témoin A1	1	3	Acide folique	5,395	5497487
4	Témoin A1	1	4	Acide folique	5,404	5521240
5	Témoin A1	1	5	Acide folique	5,412	5533333
6	Témoin A2	2	1	Acide folique	5,421	5533314
7	Témoin A2	2	2	Acide folique	5,431	5517757
Moyenne						5526573
RSD%						0,3

Le chromatogramme de la solution à examiner obtenu lors de l'analyse HPLC de l'acide folique est représenté dans les figures 19

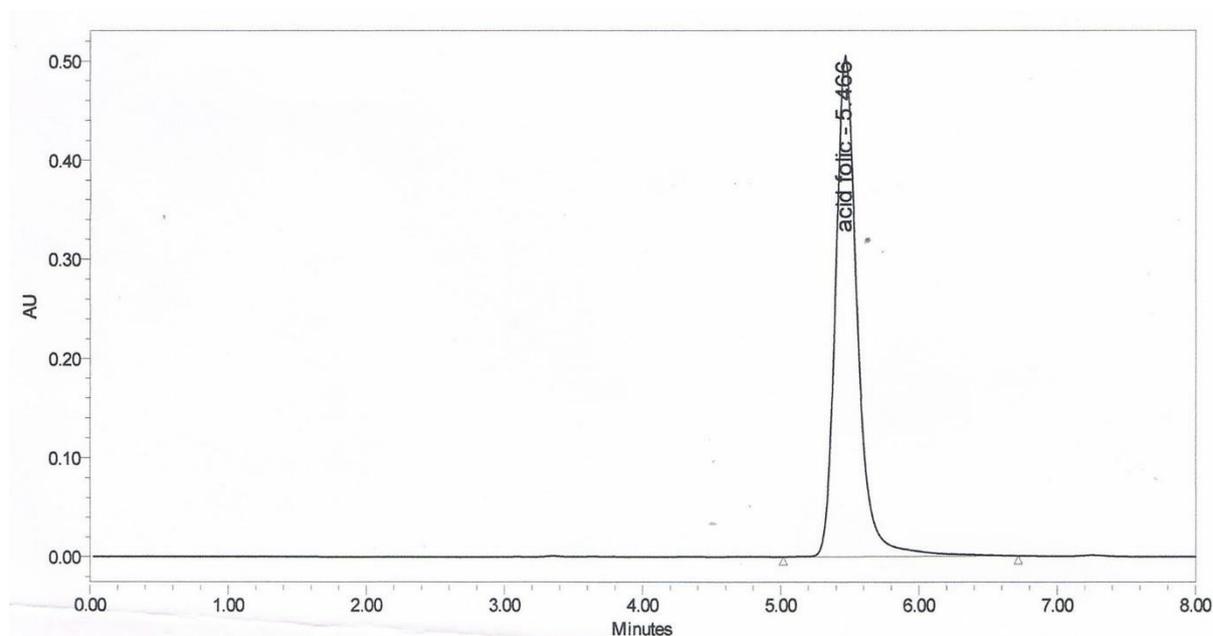


Figure 19 : Chromatogramme de l'essai

Le résultat obtenu à partir du chromatogramme de la solution à examiner de l'analyse de HPLC est présenté dans le tableau V suivant

Tableau V: Résultats de chromatographie de la solution d'essai

	Nom	Temps de rétention (min)	Surface	Surface en %
1	Acide folique	5,466	5602893	100.00

D'après le tableau III :

L'acide folique analysé est sous forme d'une poudre cristalline de couleur jaune. L'aspect est donc conforme à la norme établie par la Pharmacopée européenne 2017.

A propos de la solubilité, l'acide folique est pratiquement insoluble dans l'eau et le chloroforme néanmoins il est soluble dans l'acide chlorhydrique dilué R et l'hydroxyde de sodium 0,1N. ce résultat est conforme à la norme de la pharmacopée européenne 2017.

Le pouvoir rotatoire établie (20,23) est conforme aux normes (+18 à +22) de la pharmacopée européenne 2017.

Concernant le dosage du principe actif par HPLC, le résultat obtenu (99,4%) se situe dans l'intervalle des normes (96% à 102%) de la Pharmacopée européenne 2017.

Les chromatogrammes de dosage de l'acide folique par HPLC montrent que le pic de la solution à examiner est semblable au pic de la solution témoin (voir figure 18 et 19).

L'écart type relatif RSD% est inférieur à 2% (0,3%) donc il est conforme à la norme de la Pharmacopée européenne 2017 (tableau IV). Le temps de rétention de pic de la solution à examiner (5,466) correspond au temps de rétention des pics de la solution témoin (5,388) (voir tableau IV et V).

Le taux des cendres sulfuriques est de 0,009%. Ceci est inférieur à 0,2% qui est la norme de la Pharmacopée européenne 2017.

Nos résultats ont été comparés avec les résultats de **Boulahlib (2014)**, **Berrouag et Gandi (2017)** et **Bennatou (2018)**.

Les résultats liés à l'aspect et à la solubilité du principe actif l'acide folique corroborent avec les normes aux spécifications de la Pharmacopée européenne 2017. Cela est cohérent avec ce qui a été accompli dans les précédentes études de **Boulahlib (2014)**, **Berrouag et Gandi (2017)** et **Bennatou (2018)**. Ces résultats nous montrent que le principe actif est d'une bonne qualité organoleptique.

L'analyse du pouvoir rotatoire nous a permis de constater que l'acide folique est une molécule chirale possédant un carbone asymétrique ayant une activité optique. Une conclusion similaire a été tirée par **Berrouag et Gandi (2017)** et **Bennatou (2018)**.

Le dosage de l'acide folique par HPLC établie est de 99,4%. Des résultats semblables ont été obtenus par **Berrouag et Gandi (2017)** (98,83%), **Boulahlib (2014)** (99,3%) et **Bennatou (2018)** (98,83%). Ceci nous montre que de la dose du principe actif est conforme à la norme indiquée par la pharmacopée européenne 2017.

En se basant sur les résultats obtenus à partir des chromatogrammes de l'analyse HPLC nous avons pu conclure que le principe actif étudié est exempt d'impuretés ou de contaminants vu l'absence des pics parasites.

Le taux des cendres sulfuriques est de 0,009%, ceci corrobore aux résultats obtenus par **Berrouag et Gandi (2017)**, **Boulahlib (2014)** et **Bennatou (2018)**. Ce faible taux nous a permis de déduire que le principe actif ne contient pas d'impuretés minérales toxiques pour la santé du patient, pouvant altérer l'effet thérapeutique du principe actif.

III.1.1.2. Contrôle physicochimique de l'excipient phosphate bicalcique

Les résultats obtenus du contrôle physicochimique de l'excipient phosphate bicalcique sont présentés dans le tableau VI. Ces résultats comprennent :

Le caractère organoleptique : aspect et solubilité.

Les tests d'identification : chauffage à 70°C.

Les essais : substances insolubles dans l'acide, carbonates, chlorures, sulfates, fer, la perte à la calcination et le dosage.

Tableau VI : Résultats de contrôle physicochimique du phosphate bicalcique.

	Test	Résultats	Normes	Conformité
Caractères organoleptique	Aspect	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche	Conforme
	Solubilité dans : -L'eau -Acide chlorhydrique -Acide nitrique	- Insoluble - Soluble - Soluble	Pratiquement insoluble dans l'eau et soluble dans l'acide chlorhydrique et l'acide nitrique.	Conforme
Identification	Chauffage à 70°C	Formation d'un précipité jaune	Formation d'un précipité jaune	Conforme
Essais	Substances insolubles dans l'acide.	Absence de substances insolubles	<10mg	Conforme

	Carbonates	Il ne se produit pas d'effervescence	Il ne se produit pas d'effervescence	Conforme
	Chlorures	L'opalescence de la solution à examiner est qui moins prononcée que celle de la solution témoin	Si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci n'est pas plus prononcée que celle de la solution témoin	Conforme
	Sulfates	L'opalescence de la solution à examiner est moins prononcée que celle de la solution témoin	Si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci n'est pas plus prononcée que celle de la solution témoin	Conforme
	Fer	La coloration rose de la solution à examiner est moins intense que celle de la solution témoin	La coloration rose éventuelle de la solution à examiner n'est plus intense que celle de la solution témoin	Conforme
	Perte à la calcination	26,39%	24,5 – 26,5%	Conforme
	Dosage	100,89%	98% à 105%	Conforme

Le phosphate bicalcique donne un aspect de poudre cristalline blanche, il montre une meilleure solubilité dans l'acide chlorhydrique dilué et dans l'acide nitrique dilué et pratiquement insoluble dans l'eau et l'éthanol à 96%. En se référant aux normes de dossier pharmaceutique (monographie interne SAIDAL 2017) le phosphate bicalcique présente des caractères organoleptiques conformes aux exigences de la norme. Ceci indique que l'excipient est de bonne qualité organoleptique.

Après chauffage à 70°C de la solution de phosphate bicalcique il y a eu formation d'un précipité jaune (figure 20), ce résultat est conforme à la norme et explique que l'identification de l'excipient s'est avérée positive.



Figure 20 : Résultats de chauffage à 70°C (Photo originale, 2022)

Lors de la manipulation de l'analyse d'essai des substances insolubles dans l'acide, nous n'avons pas pu terminer toutes les étapes du protocole en raison de l'absence de substances insolubles recueilli sur le papier filtre (figure 21). L'absence de ces derniers prouve la pureté de l'excipient analysé.



Figure 21 : Absence de substances insolubles (Photo originale, 2022)

Concernant l'identification des carbonates, au moment où l'ajout de l'acide chlorhydrique a eu lieu, on n'a pas assisté à une formation d'effervescence. Ce résultat est conforme à la norme de la PE 2017 et montre l'absence totale d'impuretés de carbonates dans l'excipient.

En examinant visuellement l'aspect des solutions préparées pour l'analyse des chlorures, la solution témoin présente une opalescence plus prononcée que celle de la solution à examiner (figure 22). Un résultat similaire est observé pour l'analyse des sulfates (figure 23). Ces deux résultats corroborent avec les normes exigées par la PE 2017. On a donc pu constater que l'excipient est dépourvu d'impuretés inorganiques tels que les sulfates et les chlorures.



Figure 22 : Résultats des chlorures



Figure 23 : Résultats des sulfates

La présence potentielle de ces éléments dans l'excipient est systématiquement vérifiée car ils sont couramment utilisés au cours des synthèses et peuvent engendrer des conséquences plus ou moins graves et plus ou moins réversibles en termes de santé publique (Pont, 2010).

Quant à la recherche de fer nous avons obtenu une coloration rose moins intense de la solution à examiner par rapport à la solution témoin (figure 24), ce résultat est conforme à la norme décrite dans le dossier pharmaceutique 2017. En effet le degré de coloration nous a permis de déduire que l'excipient testé ne contient pas d'impuretés de nature ferrique.



Figure 24 : Résultats de fer (Photo originale, 2022)

Ces impuretés ferriques sont très toxiques et peuvent provoquer une gastro-entérite suivie d'une phase quiescente, puis d'un choc et d'une insuffisance hépatique (Nisse, 2021).

Il ressort de notre étude que le taux de la perte à la calcination (26,39%) est compris dans l'intervalle de confiance de la PE 2017 (24,5 – 26,5%), ceci est donc conforme.

Ce taux indique une bonne déshydratation ainsi qu'une bonne conservation de phosphate bicalcique.

Le résultat de dosage colorimétrique est de 100,89% ce qui est en total adéquation avec l'intervalle de la norme décrite par la PE 2017 (98% à 105%). Ce résultat est considéré comme conforme.

L'ensemble des résultats obtenus nous ont montré une totale conformité aux normes de la PE 2017 et une qualité satisfaisante de l'excipient analysé.

III.1.1.3. Contrôle physicochimique du produit fini ZANITRA® 5mg

Les résultats sont regroupés dans le tableau VII et comprennent :

Caractères organoleptiques : l'Aspect.

Les tests d'identification du principe actif : spectrophotométrie.

Essais : la masse moyenne, l'uniformité de teneur, la friabilité, la dissolution et le dosage du principe actif.

Tableau VII : Résultats du contrôle physico-chimique du produit fini

	Tests	Résultats	Normes	Conformité
Caractères organoleptique	Aspect	Comprimé jaune, ronds, aux bords chanfreinés lisse et brillant	Comprimé jaune, ronds, aux bords chanfreinés lisse et brillant	Conforme
	Identification	Spectrophotométrie	2,84	$2,8 \leq \frac{A_{256}}{A_{365}} \leq 3$
Essais	Masse moyenne	102.75mg	92,5mg à 107,5mg	Conforme
	Uniformité de teneur	1,15	≤ 15	Conforme
	Friabilité	0,52%	$\leq 1\%$	Conforme
	Dissolution	109,1%	$\geq 75\%$	Conforme
	Dosage	5,37mg/cp	4,5 à 5,5 mg/cp	Conforme

Le résultat de l'essai d'uniformité de teneur est présenté dans le tableau VIII suivant

Tableau VIII : Résultats de l'uniformité de teneur

Do éch	DO std	Pe std (mg)	Titre %	Teneur en mg/cp	Teneur en %
0,606	0,559	91,25	1,001	4,951	99,021
0,618	0,559	91,25	1,001	5,049	100,982
0,618	0,559	91,25	1,001	5,049	100,982
0,602	0,559	91,25	1,001	4,918	98,368
0,616	0,559	91,25	1,001	5,033	100,655
0,621	0,559	91,25	1,001	5,074	101,472
0,622	0,559	91,25	1,001	5,082	101,636
0,613	0,559	91,25	1,001	5,008	100,165
0,613	0,559	91,25	1,001	5,008	100,165
0,603	0,559	91,25	1,001	4,927	98,531
Teneur moyenne %					100,20
Teneur moyenne (mg/cp)					5,01
Ecart type					1,19
VA					1,15

Les résultats du test de dissolution sont présentés dans le tableau IX suivant

Tableau IX : Résultats de dissolution de Zanitra® 5mg.

DO éch	DO std	Pe std (mg)	Volume du milieu (ml)	Titre (%)	Taux (%)
0,311	0,31	55,7	900	100,1	100,68
0,336	0,31	55,7	900	100,1	108,78
0,331	0,31	55,7	900	100,1	107,16
0,397	0,31	55,7	900	100,1	128,53
0,341	0,31	55,7	900	100,1	110,4
0,306	0,31	55,7	900	100,1	99,07
Moyenne					109,10

D'après le tableau VII :

Les comprimés sont de couleur jaune, ronds, aux bords chanfreinés lisse et brillant conforme aux normes établies par la pharmacopée européenne 2017.

Le rapport A256/A365 est de dans l'intervalle de la norme [2,8 - 3], il est donc conforme aux normes de pharmacopée européenne 2017.

La masse moyenne des dix comprimés 102.75mg est comprise dans l'intervalle des normes revendiquées par la PE 2017 [92,5mg à 107,5mg].

D'après les résultats du tableau VIII toutes les teneurs individuelles du principe actif dans les dix échantillons du produit fini sont comprises dans l'intervalle, le résultat du VA obtenu (1,15) répond aux exigences de la Pharmacopée européenne 2017 ($\leq 15\%$).

Le taux de friabilité est de 0,52%, il est donc inférieur à la norme de la pharmacopée européenne 2017 ($\leq 1\%$).

Concernant le test de dissolution, nous avons constaté qu'au bout de 45min les six comprimés ont libéré en moyenne (109,1%) plus de 75% de la teneur théorique de l'acide folique. De plus aucun comprimé sur les dix testés au total n'a libéré moins de 75% de teneur en acide folique (voir tableau IX).

Le dosage du principe actif est de 5,37mg/cp, cette valeur est comprise dans l'intervalle (4,5 à 5,5 mg/cp) de la norme exigée par la pharmacopée européenne 2017.

Les caractéristiques du produit fini ZANITRA[®] 5mg rapportées par la bibliographie concorde avec nos résultats :

L'observation visuelle des comprimés a montré qu'il s'agit de comprimé de couleur jaune, rond, aux bords chanfreinés lisse et brillant et ils sont identiques aux critères prescrits par la PE 2017. En effet, ceci montre que les matières premières composant le médicament sont conformes.

Le rapport **A256/A356** est de (2,84), ce résultat correspond à celui trouvé par **Berrouag et Gandi (2017)** (2,9) et **Bouhahlib (2014)** (2,9). En conséquence notre résultat s'avère conforme.

La masse moyenne des dix comprimés (102.75mg) est conforme aux normes de la pharmacopée européenne. Des résultats similaires ont été trouvés par **Berrouag et Gandi (2017)** (101,86mg) et **Bouhahlib (2014)** (100,2mg).

Les résultats obtenus lors de l'essai d'uniformité de teneur répondent aux normes. Cette conformité est le résultat d'une répartition homogène du principe actif dans les comprimés.

Notre résultat sur le test de friabilité (0,52%) vis-à-vis des résultats de **Berrouag et Gandi (2017)** (0,3%) et **Bouhahlib (2014)** (0,28%) reste en dessous de la norme $\leq 1\%$ préconisé par la **PE 2017**, un taux relativement faible indique la capacité des comprimés à résister au choc mécanique lors de processus de conditionnement, le transport et la distribution du médicament.

On constate cependant que les comprimés de Zanitra satisfont aux tests de dissolution réalisés et que le produit possède une grande disponibilité conduisant à un effet thérapeutique plus

favorable, de plus, le test de dissolution a servi de démontrer la reproductibilité de procédé de fabrication.

Le dosage de l'acide folique dans le produit fini par spectrophotométrie d'absorption UV/Visible a donné un résultat satisfaisant avec une valeur de 5,37mg/cp. Ce qui confirme que l'acide folique est bien dosé et la posologie de prescription satisfera aux besoins du patient. Les résultats de **Berrouag et Gandi (2017)** (5,11mg/cp), **Boulahlib (2014)** (5,12mg/cp) et **Bennatou (2018)** (4,95mg/cp) mènent à une conclusion similaire.

Les résultats obtenus lors du contrôle physico-chimique étaient conformes aux normes exigées par la pharmacopée européenne 2017, ceci témoigne la maîtrise de la bonne pratique de fabrication, le respect des étapes lors de la fabrication, ainsi, la bonne qualité des matières premières.

Résultats du contrôle microbiologique

Les résultats des analyses microbiologiques réalisés sur le produit fini sont représentés dans le tableau X.

Tableau X : Résultats de contrôle microbiologique du produit fini

Contrôles	Résultats	Normes	Conformité
Dénombrement des germes aérobies viables totaux	0 ufc/g	≤ 1000 ufc/g	Conforme
Dénombrement des moisissures et levures totales DMLT	0 ufc/g	≤ 100 ufc/g	Conforme
Recherche d'Escherichia coli	Absence	Absence	Conforme

D'après le tableau X :

L'absence totale des germes aérobies viables totaux (bactéries) dans le lot étudié, ce qui est conformes à la norme exigé par la pharmacopée européenne (≤ 1000 ufc/g).

Le dénombrement des levures et moisissures a montré une absence totale de ces derniers. Ce résultat est donc conforme à la norme décrite par la pharmacopée européenne 2017 (≤ 100 ufc/g).

On constate une absence totale des germes pathogènes tels que Escherichia coli, ce résultat est conforme à la norme établie par la pharmacopée européenne 2017.

Les résultats de dénombrement des bactéries sont présentés dans la figure 25

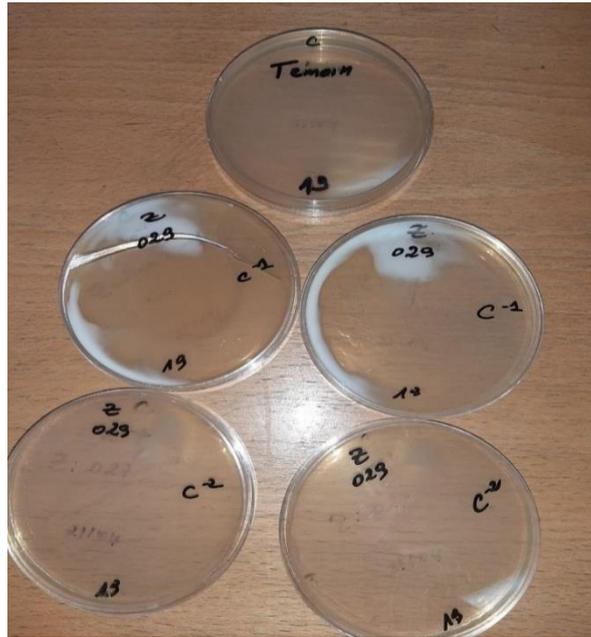


Figure 25 : Résultats de dénombrement des bactéries après 5jours (Photo originale, 2022)

Après cinq jours d'incubation, les boîtes correspondant aux dilutions 10^{-1} et 10^{-2} ont montrés l'absence totale des bactéries dans le produit fini. Le milieu de contrôle de la gélose nous a démontré que cette dernière employée n'est pas contaminée, comme l'indique la figure 25. De ce fait, le résultat est donc conforme.

Les résultats de dénombrement de levures et moisissures sont présentés dans la figure 26.

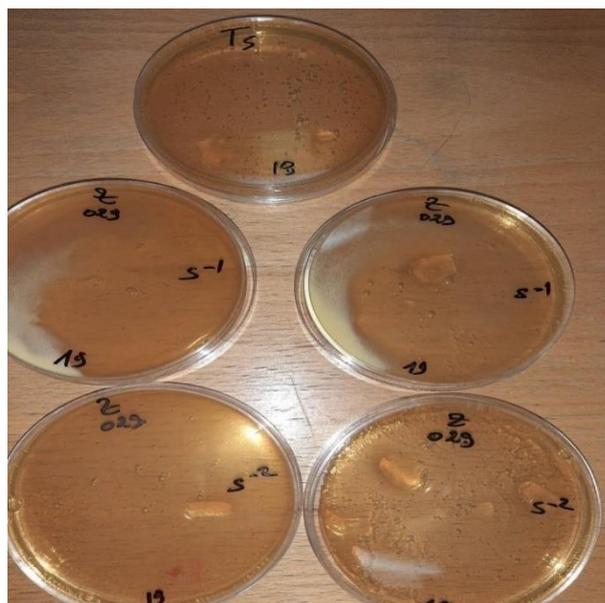


Figure 26 : Résultats de dénombrement de levures et moisissures après 7jours (Photo originale, 2022)

Concernant le dénombrement des levures et moisissures, nous avons pu effectuer la lecture des résultats après sept jours d'incubation, les boîtes correspondant aux dilutions 10^{-1} et 10^{-2} ont montré l'absence totale de levures et moisissures dans le produit fini. Le milieu gélosé comme témoin a montré que la gélose employée n'est pas contaminée, le résultat est donc conforme (figure 26).

Le résultat de recherche d'*Escherichia coli* est présenté dans la figure 27.



Figure 27 : Résultat de recherche d'*Escherichia coli* après 48h (Photo originale, 2022)

Après deux jours d'incubation, nous n'avons pas observé une présence d'*Escherichia coli* (figure 27).

En égard des résultats obtenus lors de cette analyse, nous avons constaté que la bonne déshydratation du produit fini empêche toute prolifération microbienne.

En effet nos résultats corroborent avec ceux de **Berrouag et Gandi (2017)**, **Boulahlib (2014)** et **Bennatou (2018)** et sont préalablement identiques.

Ces essais de contrôle de la pureté microbienne des comprimés décrits dans la monographie de la pharmacopée européenne 2017 sont essentielles afin de déterminer si le médicament est conforme aux exigences microbiologiques spécifiés.

On peut donc conclure que le produit fini est de bonne qualité microbiologique et ne renferme aucun germe dans l'ensemble des échantillons analysés et réponds aux normes de la pharmacopée européenne 2017. Cela est dû à plusieurs facteurs, notamment :

- L'état hygiénique des équipements et réactifs utilisés ;
- L'absence de contamination lors de la fabrication, et prélèvements d'échantillons ;
- L'absence des impuretés dans les matières premières ;
- Le respect des bonnes règles d'hygiène.

Conclusion

Conclusion

Notre travail porte sur l'étude de contrôle qualité d'un antianémique non obligatoirement stérile ZANITRA®5mg fabriqué par l'entreprise pharmaceutique SAIDAL au sein de la filiale BIOTIC de Gué de Constantine. Il a été basé sur la vérification selon les référentiels le niveau d'application des règles de contrôle et le niveau de la qualité des matières premières et le produit fini.

Les analyses effectuées sur les caractères organoleptiques nous ont permis de vérifier l'aspect, la couleur et la solubilité des matières premières (acide folique et phosphate bicalcique) et du produit fini, les résultats obtenus sont conformes et répondent aux normes décrites par la Pharmacopée européenne 2017.

Sur le plan physico-chimique, l'ensemble des tests d'identification et d'essais concernant les matières premières et le produit fini nous ont permis non seulement de contrôler la qualité de ces derniers mais aussi d'évaluer la pureté et la bonne qualité des matières premières, la bonne maîtrise de fabrication du produit fini et les conditions de conservation au niveau des magasins de stockage

D'un point de vue microbiologique, le dénombrement des bactéries, les levures et moisissures ainsi que la recherche d'Escherichia coli a révélé une totale absence de ces germes pour le lot analysé. Ces résultats montrent que le produit fini est d'une qualité microbiologique satisfaisante, ceci est la conséquence d'un respect des bonnes pratiques d'hygiène.

A travers notre travail, au regard des résultats obtenus on a pu démontrer que le médicament fabriqué par l'entreprise SAIDAL est conforme en termes de qualité, efficacité et sécurité et mérite d'avoir une autorisation de mise sur le marché, en effet, il peut être délivré aux patients sans aucun risque.

Malgré la qualité des résultats obtenus soit satisfaisante il est néanmoins capital de garder à l'esprit pour la direction qu'il faut toujours rester vigilant en tenant compte de :

- Un personnel motivé, qualifié et formé de façon appropriée.
- Le respect des normes exigées par les monographies ainsi que l'actualisation des pharmacopées européenne.
- L'entretien du matériel et le nettoyage rigoureux des équipements et des locaux.
- La qualité et le stockage des matières premières.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

Aiache, J.M., Beyssac, E., Cardot, J.M., Hoffart, V., Renoux, R., 2008. -Le pharmacien dispensateur du médicament, In Initiation à la connaissance du médicament. 5^{ème} Edition Elsevier Masson SAS, Pp: 12-13.

Aiache, J.M., Cardot, J.M., Hoffart, V., 2011. -Introduction à la pharmacie et à la profession de pharmacien. In Médicaments et autres produits de santé. Elsevier Masson. Pp : 11.

Alioua A, 2012. La revue annuelle qualité du produit, “Une démarche managériale vers une extension normative ISO 9001 ”. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie Rabat, Maroc. Pp : 4.

Allard, D., 2013. Erythropoïèse normale et pathologique, internalisation de c-kit et morphologie de nucléole. Thèse de doctorat. Université de Paris Descartes, France. Pp : 4.

Arif, M., Achour, N., 2019. Evaluation de la qualité physicochimique de chlorhydrate d'atomoxetine 10mg en vue d'obtention d'une décision d'enregistrement. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de médecine. Université de Saad Dahleb Blida, Algérie. Pp : 7.

Beaulieu, P., Pichette, V., Desroches, J., Du Souich, P., 2015. -Pharmacologie générale, In Précis de pharmacologie du fondamentale à la clinique. 2^{ème} Edition, Les presses de l'Université de Montréal, Canada. Pp : 18.

Benattou, A. 2018. Fabrication et contrôle de qualité d'un médicament : ZANITRA[®] 5mg. Mémoire de Master en Génie chimique. Faculté de génie chimique. Université de Akli Mohand Oulhadj-Bouira- Institut de Technologie, Algérie. Pp : 29, 34, 35.

Benslimane, M., Alaoui, F.Z., Souissi, A., Sassi, W., Mokni, M. 2021. Pellagre : étude clinique sur 25ans. La Revue de Médecine Interne, 42 (2). Pp : A390.

Berrouag, M., Gandi, H. 2017. Contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique de l'Acide folique (comprimé zanitra[®] 5mg). Mémoire de Master en génie des procédés industriels. Faculté des Sciences de l'ingénieur. Université de M.Bougara-Boumerdes, Algérie. Pp : 41, 50, 51.

Boulahbib, N., 2014. Contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique de l'Acide folique (comprimés Zanitra[®]5mg). Mémoire de Master en génie biologique. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université de Saad Dahleb Blida, Algérie. Pp : 35, 42, 44,

Boutefnouchet, S., Girard, C., Hennebelle, T., Poupon, E., Seguin, E. 2020. Pharmacognosie : obtention et propriétés de substances active médicamenteuses d'origine naturelle. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson. Pp : 77.

Calop, J., Limat, S., Fernandez, C., 2008. -Traitement des anémies. In pharmacie clinique et thérapeutique. 3^{ème} Edition Paris, Elsevier Masson. Pp : 501.

Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S., Vasson, M.P., Hasselmann, M., Leverve, X., 2007. - Vitamines, Traité de la nutrition artificielle de l'adulte, Berlin : Springer Pp : 128.

Centre national d'information sur la biotechnologie. "PubChem Compound Summary for CID 135398658, Folic acid" *PubChem*, [En ligne]. Disponible sur : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Folic-acid> . (Consulté le 20 mai 2022).

Centre national d'information sur la biotechnologie. PubChem Compound Summary for CID 104805, Hydrogénophosphate de calcium dihydraté. [En ligne]. Disponible sur : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Calcium-hydrogen-phosphate-dihydrate>. (Consulté le 20 mai 2022).

Code de la santé publique (Article L5111-1), 2022. [En ligne] disponible sur : https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000006689867/. (Consulté le 17 mai 2022).

Colomb, F., 2010. HPLC principe et appareillage. Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine. Académie de Rouen. Pp : 2.

Couture, M.M., Deshaies, J.F., Dufour, J., Sansoucy, Y. 2001. -L'état de connaissance, In *l'acide folique chez les femmes enceintes*. INSPQ Montréal. Pp : 8.

Younan, D.M. 2015. Xérophtalmie : ML7 en phase préclinique. *Option/Bio*, 26(521). Pp : 11.

Dangoumau, J. 2006. -Introduction. In *Pharmacologie générale*. Département de pharmacologie, Université Victor Segalen Bordeaux 2, France. Pp: 1.

Delalonde, M., Ruiz, T. 2007. Dissolution of pharmaceutical tablets: the influence of penetration and drainage of interstitial fluids. *Elsevier B.V*, 47(3). Pp : 371.

Della Valle, G., 2017. Caractérisation structurale d'amidons natifs et hydrolysés, et de leurs polymères. [en ligne] Disponible sur : <https://www6.angers-nantes.inrae.fr/bia/Equipes-de-recherche/Materiaux-Creation-Comportement-MC2/Quelques-resultats-marquants/Caracterisation-structurale-d-amidons-natifs-et-hydrolyses-et-de-leurs-polymeres>. (Consulté le 13 juin 2022).

Depovere, P., 2005. – L'isomérisation, In *Chimie organique*, 2^{ème} Bruxelles Edition de Boeck Pp : 20.

Di Benedetto, D., Breuil, P. 2019. Spectrométries. *Techniques de l'ingénieur* 4^{ème} Edition. Pp : 110.

Djebbar, M., 2019. Les comprimés. *Faculté de médecine, laboratoire de pharmacie galénique*. Pp: 57.

Dowd, F.J., Johnson, B.S., Mariotti, A.J, 2017. -Pharmacology of specific drug groups, In *Pharmacology and therapeutics for dentistry*, 7^{ème} Edition Elsevier. Pp : 366.

Duployez, N., 2020, -Anémies, In *Hématologie*, 3^{ème} Edition Louvain-la-Neuve De Boeck Supérieur, Pp : 16.

Fortin M., et Lamontagne C., 2015. -Les médicaments, les formes pharmaceutiques et les principes de pharmacologie, In Math et méd guide pour une administration sécuritaire des médicaments. 2^{ème} Edition Chenelière education. Pp: 57.

Frederick, O.Y., Changquan, C.S. 2015. Validation and applications of an expedited tablet friability method. International journal of pharmaceutics, 484 (3-2). Pp : 146.

Gana, I., 2015. Caractérisation physique et chimique des substances à activité thérapeutique. Application aux études de profils de stabilités et de préformulation. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Monastir et l'Université de Paris Descartes. Pp : 60.

Haida, S., Bennani, O., Laghzaoui, M., Bouhya, S., 2010. -Acide folique (vitamine B9) et grossesse. Journal Marocain des sciences médicales, Tome XVII N°3. Pp : 7.

Helali, A., 2018. La contrefaçon des médicaments : un phénomène en pleine expansion [en ligne] disponible sur : <http://www.cnpm.org.dz/index.php/ev%C3%A9nements/110-la-contrefa%C3%A7on-des-m%C3%A9dicaments-un-ph%C3%A9nom%C3%A8ne-en-pleine-expansion.html>. (Consulté le 19 mai 2022).

Hobbs, C.A., Saigo, K., Koyanagi, M., Hayashi, S.M. 2017. Magnesium stearate, a widely-used food additive, exhibits a lack of in vitro and in vivo genotoxic potential. Toxicology reports. (4). Pp: 555.

Houcher, B., Naimi, D., Begag, S., Bouzidi, A., 2004. - Evaluation de l'anémie macrocytaire chez une population féminine dans la région de Sétif. Science et technologie C N°21. Pp : 75.

Joly Guillou, M.L. 2016. -*Escherichia coli* revisité ami ou ennemi ? Revue Francophone des Laboratoires. 2016 (484). Pp : 27.

Koissi, J.F. 2008. Contrôle de qualité des comprimés non enrobés cas d'un générique et d'un princeps de doxycycline. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de médecine et de pharmacie. Université Mohamed V, Maroc. Pp : 57.

LAROUSSE., 2012. Erythroblaste [en ligne]. Disponible sur : <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/%C3%A9rythroblaste/12923#:~:text=Cellule%20de%20la%20moelle%20osseuse,cellules%20de%20la%20moelle%20osseuse>.(Consulté le 03 juin 2022).

Le Hir, A., Chaumeil, J.C., Brossard, D. 2009. -Vie d'un médicament de la conception aux bonnes pratiques de fabrication, In pharmacie galénique, bonnes pratiques de fabrication des médicaments 9^{ème} Edition, Issy les Moulineaux : Elsevier Masson. Pp : 5-10.

Levy, J. P, Varet, B, Clauvel, J. P, Lefrère, P, Bezeaud, A, Guillin, M.C, 2008. - physiopathologie des anémies, In *Hématologie et transfusion*, Elsevier Masson, Pp : 39.

M. Kouassi, G.S, 2020. Etude rétro perspective du control de qualité des médicaments au laboratoire national de la santé de 2012 à 2019. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako faculté de pharmacie, Mali. Pp : 14-15.

Maire, P., Corvaisier, S., Bouvier d'Yvoir, M., Claude, D., Barbaut, X., Carret, G., Jehl, F., Thalabard, J.C., Jelliffe, R.W. 2000. Pharmacocinétique/pharmacodynamie clinique des antibiotiques. EDPScience, 9. Pp : 1.

Moonen, M., Lancellotti, P., Betz, R., Lambermont, B., Piérard, L. 2007. Bériberi. Rev Med Liège, 62(7-8). Pp : 523.

Neal, M.J., Depovere, P. 2017. – Introduction principe de base de l'action pharmacologique des médicaments 6^{ème} édition. In Pharmacologie médicale. Louvain-la-Neuve : De Boeck supérieur. Pp : 2.

Nnanga, N., Owona Manga, L.J., Etamé Loe, G., Aba'a, MD., Nnomo Assiga, K., Olinga, M.F., Arrey Arrah, H., Menyeng Mvomo, A.A., Mpondo Mpondo, E. 2016. Qualitative evaluation of anthelmintics tablets sold in the formal and informal drug distribution systems of Yaoundé: case of Albendazole, Mebendazole and Praziquantel. Health Sci, 17(3), Pp : 4.

Nisse, P., 2021. -Toxicologie analytique et clinique. Elsevier Masson SAS, 33 (1). Pp : 13.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS).1997. Guide des normes relatives aux bonnes pratiques de fabrication (BPF), Genève. Pp : 2.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). 2010. Règles de bonnes pratiques applicables par les laboratoires de control de qualité pharmaceutique, série de rapports techniques, N°957 Pp : 3.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). 2014. Bulletin d'information N°03.

Pharmacopée européenne 2017.

Perrault, M., 2009. Comportement du stéarate de magnésium lors du mélange de poudres pharmaceutiques. Thèse de doctorat. Université de Montréal, Canada. Pp : 3.

Piard, J., Randon, J. 2021. L'absorbance : comment rendre sa compréhension plus lumineuse aux yeux des apprenantes. Union des professeurs de physique et de chimie, 15(1037). Pp : 910.

Pont, E. 2011. Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique selon la pharmacopée européenne : évolution des connaissances et des méthodes analytiques de contrôle. Thèse de doctorat de l'université des Limoges, France. Pp : 12.

Preynat, A., 2009. Interaction acide folique -vitamine B12- méthionine : effet sur le métabolisme hépatique et la productivité des vaches laitières. Thèse de doctorat en science animale. Université Laval Québec, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Canada. Pp : 47- 48.

Prouchandy, C., 2018. Les médicaments génériques et biosimilaires. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Picardie Jules Verne, France. Pp : 14.

Pszczolinski, C., 2018. L'influence de la nature des liants dans le procédé de compression humide : cas du lactose. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lorraine, faculté de Pharmacie, France. Pp : 25.

Ragued, H., Guerch, A. 2019. Contrôle qualité physico-chimique des formes intermédiaires des comprimés Valsartan/Hydrochlorothiazide 80/12,5 mg au cours de la validation du procédé de fabrication. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de médecine. Université Saad Dahleb Blida, Algérie. Pp : 23.

Radouani, M.A., Chahid, N., Benmiloud, L., Elammari, L., Lahlou, K., Barkat, A. 2015. Epidémiologie et facteurs de risque des anomalies

Roché, Y., Niel, P., 2006. - Analyses en microbiologie produits non stériles. Technique de l'ingénieur. Pp : 60.

Saubade, F., 2016. Potentiel nutritionnel du microbiote d'aliments fermentés à base de céréales : le cas des folates. Thèse de doctorat en Agro ressources, Procédés, Aliments, Bioproduits. Université de Montpellier, France. Pp: 47.

Scaglione, F., Panzavolta, G., 2014. - Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *Xenobiotica*, 44(5). Pp : 481.

Simard, C., 2013. -Les effets des médicaments sur l'organisme, In compétence 9 pharmacothérapie, Chenelière éducation. Pp: 42.

Snoeck, V., Goddeeris, B., Cox, E. 2005. The role of enterocytes in the intestinal barrier function and antigen uptake, *Microbes and Infection*, 7(7-8). Pp : 997.

Stora, D., 2008. Pharmacie et surveillance infirmière. 5^{ème} Edition Wolter Kluwer France. Pp : 372.

Touitou, Y., 2007. -Introduction aux médicaments définition et but de la pharmacologie, In Pharmacologie. 11^{ème}. Issy Les Moulineaux : Edition Elsevier Masson SAS. Pp : 4.

Vandamme, T.F., Rival, Y., Pabst, J.Y., Heitz, C., 2010. -Généralités sur le médicament, In initiation à la connaissance du médicament. Lavoisier. Pp : 12.

Varet, B., 2012. -Principales thérapeutiques des hémopathies non malignes, In *Hématologie*, Lavoisier Médecine-sciences publication Pp : 367.

Vidal., 2022. Acide folique CCD 5mg cp, [en ligne]. Disponible sur : <https://www.vidal.fr/medicaments/acide-folique-ccd-5-mg-cp-18855.html> . (Consulté le 13juin 2022).

Wehrlé, P., 2007. In Pharmacie Galénique, Formulation et technologie pharmaceutique 1^{ère} Edition. Maloine France. Pp : 96.

Wouessi Djewe, D. 2012. -Formes galénique administrées par voies entérales. In Pharmacie galénique : voie d'administration et formes pharmaceutiques. Université Joseph Fourier de Grenoble, France. Pp : 18.

Yabre, M. 2020. Méthodes d'analyses innovantes et peu polluantes pour le contrôle qualité des médicaments essentiels : application aux antipaludiques. Thèse de doctorat en chimie

analytique et environnemental. Université de Bordeaux, France et de Joseph Ki-Zerbo, Burkina Faso. Pp : 1.

Yekpe, K., 2014. Relier les attributs de matériaux et les paramètres de procédé de fabrication à un test de control qualité une application du concept du Quality by design. Thèse de doctorat de l'Université de Montpellier, France et Philosophie Doctor de l'Université de Sherbrooke, Canada. Pp : 35.

Les annexes

Annexe 01 : matériel non biologique

1) Matériels et réactifs utilisés dans le contrôle physico-chimique

Appareils	Réactifs	Verreries
-Etuve -Agitateur vortex -pH mètre - Plaque chauffante -Bain marie -Four à moufle -Hotte chimique aspirante -Minéralisateur -Dessiccateur -Friabilimètre ERWEKATA -Spectrophotomètre UV/Visible -Polarimètre -HPLC model WATERS	-Potassium phosphate monobasique -Hydroxyde de potassium -Tampon phosphate pH 7 (0,2M) - Hydroxyde de sodium 0,1N - Acide chlorhydrique dilué R - Acide nitrique dilué R - Acide citrique monohydraté R - Acide sulfurique 0,005M - Acide thioglycolique R - Ammoniaque dilué R1 - Molybdate d'ammonium R - Nitrate d'argent R2 - Méthanol R - Phosphate monopotassique R - Phosphate dipotassique R - Chlorures de baryum R - Chloroforme - Chlorure d'ammonium pH 10,7 - Carbonate de sodium R - Mordant noir 11R - Edétate de sodium - Sulfate de zinc 0,02M - Solution de fer à 1ppm -Nitrate d'argent R2	-Fioles jaugées en verre (10ml, 20ml, 50ml, 100ml) -Pipettes en verre graduées (1ml, 10ml, 20ml, 25ml) -Poire -Tube à essai - Erlenmeyers -Becher -Creuset en silice -Eprouvette en verre graduée - Papiers filtres -Filtre seringue de 0,45µm - Seringues -Entonnoir en plastique - Spatule en inox - Gants -Mortier

2) Matériels et appareils utilisés dans le contrôle microbiologique

- Bec benzène.
- Etuve réglée à 27°C.
- Etuve réglée à 37°C.
- Etuve réglée à 44°C.
- Pipettes graduées stériles.
- Four de stérilisation 180°C.

3) Préparations des solutions pour le control physicochimique :

Carbonates :

On agite 0,5g de phosphate bicalcique avec 5ml d'eau R, puis on ajoute 1ml d'acide chlorhydrique R.

Chlorures :

Préparation de la solution à examiner

On dissout 0,2g de phosphate bicalcique dans un mélange de 20ml d'eau R et de 13ml d'acide nitrique dilué R en chauffant, puis on complète à 100ml avec de l'eau R. On prélève 50ml de cette solution.

Préparation de la solution témoin

On ajoute à 0,7 ml d'acide chlorhydrique 0,01M, 6ml d'acide nitrique dilué R, puis on complète à 50ml avec de l'eau R.

On ajoute 1ml de solution de nitrate d'argent R2 à la solution à examiner et à la solution témoin, après agitation des deux solutions, on laisse reposer pendant 5min à l'abri de la lumière.

Sulfates :

Solution à examiner

On dissout 0,5g de phosphate bicalcique dans un mélange de 5ml d'eau R et de 5ml d'acide chlorhydrique dilué R, puis on complète à 100ml avec de l'eau R.

A 20ml de cette solution, on ajoute 1ml d'acide chlorhydrique dilué R, puis on complète à 50ml avec de l'eau R.

Solution témoin

Dans une fiole de 50ml, on ajoute 10ml d'acide sulfurique 0,005M et 1ml d'acide chlorhydrique dilué R et on complète jusqu'au trait de jauge avec de l'eau R.

On ajoute à la solution témoin et à la solution à examiner 2ml de solution de chlorure de baryum R à 120g/L et on laisse reposer pendant 5min.

Fer :

Préparation de la Solution S :

On dissout 2,5g de phosphate bicalcique dans 20ml d'acide chlorhydrique dilué R.

Après dissolution, on ajoute de l'ammoniaque dilué R1 jusqu'à la formation d'un précipité.

On dissout le précipité en ajoutant la quantité strictement nécessaire d'acide chlorhydrique dilué R et on complète à 50ml avec de l'eau distillée R.

Solution à examiner

On dissout 0,5ml de la solution S dans de l'eau R et on complète à 10ml avec le même solvant.

On ajoute 2ml d'une solution d'acide citrique monohydraté R à 200g/L et 0,1 ml d'acide thioglycolique R.

Après agitation, on alcalinise avec de l'ammoniaque R et on complète à 20ml avec de l'eau R.

Solution témoin

Le témoin est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la solution S par 10ml de solution à 1ppm de fer.

Solutions	Préparations
Acide nitrique	Dissoudre 2,7g d'acide nitrique dans 20ml d'eau distillée et bien homogénéiser.
Acide chlorhydrique 0,01M	Dissoudre 1ml de HCL 0,1N dans 10ml d'eau distillée et bien homogénéiser.
Chlorures de baryum	Dissoudre 1,2g de chlorure de baryum dans 10ml d'eau distillée et bien homogénéiser.
Acide sulfurique 0,005M	Dissoudre 2ml d'acide chlorhydrique 0,025M dans 8ml d'eau distillée.
Fer 1ppm	Dissoudre 1ml de fer 20ppm dans 20ml d'eau distillée.
Acide citrique monohydraté R à 200g/L	Dissoudre 4g d'acide citrique monohydraté dans 20ml d'eau distillée.
Solution tampon chlorure d'ammonium pH 10,7 R	Dissoudre 67,5g de chlorure d'ammonium R dans l'eau R et ajouter 570ml d'ammoniaque concentré R et compléter à 100ml avec l'eau R.

Annexe 02

Composition des milieux de cultures

- **Solution tampon Peptonée au chlorure de sodium pH 7 :**

Phosphate monopotassique.....	3,6g
Phosphate dipotassique dihydraté.....	3,7g
Chlorure de sodium.....	4,3g
Peptone de viande ou de caséine.....	1g
Eau	100mL

- **Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja :**

Peptone pancréatique de caséine.....	150g
Peptone papaique de soja.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Gélose.....	15g
Eau R.....	1000mL

- **Milieu gélosé Sabouraud-glucosé :**

Dextrose.....	40g
Mélange de peptone peptique de tissus animal et de peptone pancréatique de caséine.....	10g
Gélose.....	15g
Eau R.....	1000mL

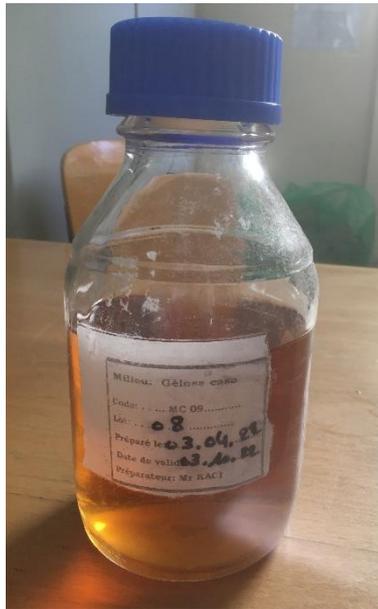
- **Milieu liquide de MacConkey :**

Hydrolysats pancréatique de gélatine.....	20g
Lactose monohydraté.....	10g
Bile de bœuf déshydraté.....	5g
Pourpre de bromocrésol.....	0,01g
Eau R.....	1000mL

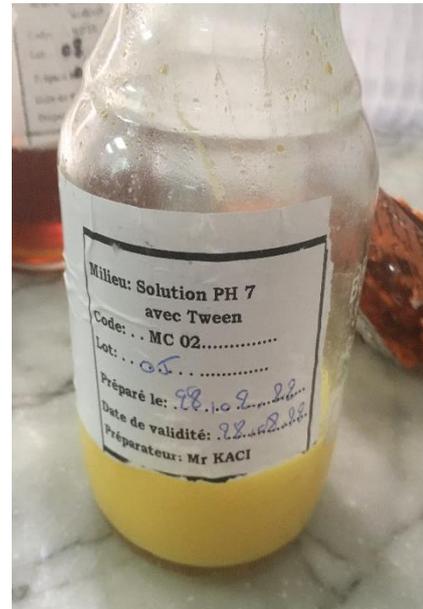
- **Milieu gélosé de MacConkey :**

Hydrolysate pancréatique de gélatine.....	17g
Peptone de viande et caséine.....	3g
Lactose monohydraté.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Sels biliaires.....	1,5g
Gélose.....	13,5g
Rouge neutre.....	30mg
Violet cristallisé.....	1mg
Eau R.....	1000mL

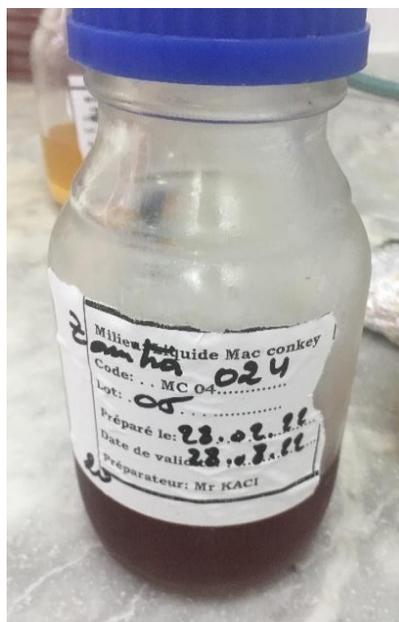
Les milieux de cultures utilisés :



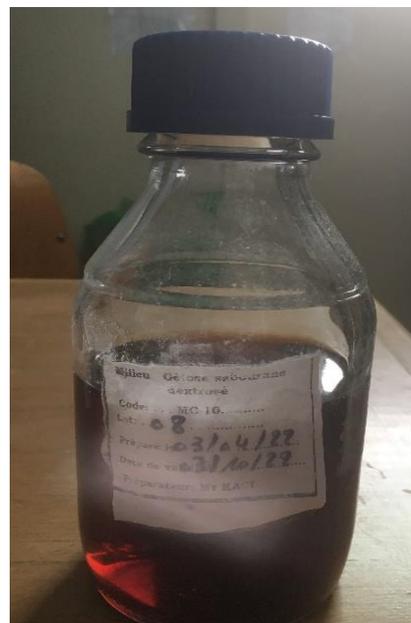
Gélose de caséine et de soja



Solution tampon péptoné au chlorure de sodium pH 7



Milieu liquide MacConkey



Gélose Sabouraud

Annexe 03 Résultats de contrôle physico-chimique

Matières premières

- **Acide folique**

1) Calcul du pouvoir rotatoire

$$\text{Pouvoir rotatoire} = \frac{\alpha \times V \times 100}{P_e \times (100 - T_e)}$$

$$\text{Pouvoir rotatoire} = \frac{0,19 \times 25 \times 100}{0,2504 \times (100 - 6,27)}$$

$$\text{Pouvoir rotatoire} = \mathbf{20,23.}$$

2) Calcul du dosage par HPLC

$$\text{AF \%} = \frac{A_e}{A_t} \times \frac{P_e T}{P_e E} \times \frac{100 - T_e T}{100 - T_e E} \times T_e$$

$$\text{AF \%} = \frac{5602893}{5526573} \times \frac{100,35}{100,4} \times \frac{100 - 8,2}{100 - 6,3} \times 100,1$$

$$\text{AF \%} = \mathbf{99,4\%}$$

3) Calcul des cendres sulfuriques

$$\text{Cs \%} = \frac{P_f - P_v}{P_e} \times 100$$

$$\text{Cs \%} = \frac{27,7342 - 27,7341}{1,0008} \times 100$$

$$\text{Cs \%} = \mathbf{0,009\%}$$

- **Phosphate bicalcique**

1) Calcul de la perte à la calcination

$$\text{Perte à la calcination \%} = \frac{(P_v + P_e) - P_f}{P_e} \times 100$$

$$\text{Perte à la calcination \%} = \frac{(27,7344 + 1,0024) - 28,4722}{1,0024} \times 100$$

Perte à la calcination = 26,39%

2) Calcul du dosage

$$D_g = \frac{V_t - V_e \times C_t}{P_e}$$

$$D_g = \frac{24,65 - 12,9 \times 3,44}{0,4006}$$

Dg = 100,89%