



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV  
Filière Sciences Biologiques  
Option : Biochimie

Thème

**Etude des paramètres physico-chimiques et biologiques de  
Frubial(Soluté buvable en ampoule)fabriqué au sein du site de  
production SAIDAL à Gué de Constantine et suivi de leur chaine de  
production**

**Présenté par :**

**Date de soutenance : 06/07/2022**

M<sup>elle</sup> CHEREF Nardjes

M<sup>elle</sup> CHENAF Meriem

**Devant le jury :**

• Nom	Grade/Lieu	Qualité
Mme HAMAIDI F.	Pr/USDB1	Présidente
Mme TOBAL S.	MAA/USDB1	Examinatrice
Mme TOUAIBIA M.	MCA/USDB1	Promotrice
Mme CHEBAI H.	Analyste/SAIDAL	Co-promotrice

**Promotion: 2021-2022**

## *Remerciement*

*Dans un premier temps, nous remercions Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la santé, le courage afin d'arriver à la finalité de cette recherche.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble du membre de jury :*

*Nous adressons nos vifs remerciements à **Mme. Hamaïdi F.** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous tenons à gratifier **Mme. Tobal Seghir S.** pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner.*

*Nous tenons à accorder nos sincères remerciements, nos respects, notre gratitude à notre promotrice **Mme. Touaïbia M.** pour son encadrement, orientation, ses précieux conseils et sa disponibilité tout au long ce mémoire.*

*A notre co-promotrice **Mme. Chaïbaï H.** pour nous avoir guidé tout au long de notre stage.*

*Un grand merci à tous les membres du groupe SAIDAL de gué de Constantine filiale BIOTIC.*

*Enfin nous adressons nos sincères sentiments de gratitude et de reconnaissances à nos familles et à toutes les personnes qui ont participé de près et de loin à la réalisation de ce travail.*



## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à tous ce qui tient une place dans mon cœur :*

### *À mon très cher père*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.*

### *À ma très chère maman*

*Votre patience, votre bonne volonté, vos conseils précieux ainsi que votre confiance en moi ont joué un grand rôle dans ma réussite.*

### *À ma sœur HIBA*

### *À mes frères ISHAK et MOHAMED EL HADI*

*Du fond du cœur, un grand merci à madame AISSIA Faiza qui m'a beaucoup aidé avant et durant la période de stage et à une grande contribution dans la réalisation de ce mémoire.*

### *À tous les membres de la famille*

*À toute l'équipe de l'unité de Gué de Constantine de la filiale biotic du groupe SAIDAL.*

*À tous mes amis de la promotion biochimie 2021/ 2022.*

*Merci !*

*Nardjes*





## *Dédicaces*

*Pour chaque début il y a une fin, et ce que est beau dans toute fin c'est  
la réussite et l'atteinte du but.*

*Je dédie ce modeste travail comme un geste de gratitude :*

*À mes très chers parents*

*À Ma mère, ma vie et mon bonheur, ta présence à mes côtés a toujours  
été une source de courage pour affronter les différents obstacles.*

*À Mon père, mon soutien moral, puisse dieu vous donne santé et  
bonheur.*

*À Mes chères sœurs*

*Sarah et Amel que j'adore pour leur grand soutien et leur aide  
précieuse.*

*À mon cher frère*

*Abderrahman.*

*À mes amies*

*Yasmine, Sarah.*

*Aux personnels du groupe SAIDAL particulièrement Mme Faiza.*

*À mes collègues et toute la promotion de biochimie 2021/2022.*

*Meriem*



## Liste des abréviations

**AC** : Article de conditionnement

**AMM** : Autorisation de mise sur le marché

**AQ** : Assurance de qualité

**ATC** : A = anatomique ; T = thérapeutique ; C = codage chimique

**BFF** : Bonne pratiques de fabrication

**CQ** : Contrôle de qualité

**CSP** : Code de la santé publique

**DCI** : Dénomination Internationale Commune

**GDC** : Gué de Constantine

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance

**HCL** : Acide chlorhydrique

**ISO** : Organisation internationale de normalisation

**IR** : Infrarouge

**MDC** : Médicament

**MP** : Matières premières

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**PA** : Principe actif

**PE** : Pharmacopée européenne

**pH** : Potentiel hydrogène

**PVC** : Poly vinyl chloride

**RCP** : Résumé des caractéristiques du produit

**SRC** : Spectre de référence

**TFA** : Acide trifluoroacétique

**TH** : Thioglycolate

**THF** :Tétrahydrofurane

**UV** : Rayonnement ultraviolet

**VDR** : Récepteur de la vitamine D

**VDRE** : Elément de réponse à la vitamine D

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Mise en forme d'un médicament .....	5
<b>Figure 2 :</b> Aspect de l'emballage et des ampoules du médicament FRUBIAL® faible (solution buvable) .....	7
<b>Figure 3 :</b> Structures des précurseurs et des métabolites de la vitamine D.....	11
<b>Figure 4 :</b> Schéma général de la procédure de fabrication du médicament FRUBIAL® faible/ solution buvable en ampoule.....	13
<b>Figure 5 :</b> Schéma récapitulatif des étapes effectuées pour l'analyse des matières premières (principes actifs+excipient).....	21
<b>Figure 6 :</b> Schéma récapitulatif des étapes effectuées pour l'analyse du produit fini FRUBIAL® faible.....	22
<b>Figure 7 :</b> Appareil de chromatographie liquide à haute performance ( <i>Alliance</i> ).....	30
<b>Figure 8 :</b> Schéma représentant la méthode de recherche des levures et des moisissures dans le produit fini .....	38
<b>Figure 9 :</b> Schéma représentant la méthode de recherche des bactéries aérobies et anaérobies dans le produit fini.....	39
<b>Figure 10 :</b> Administration par gavage du produit fini FRUBIAL® faible .....	41
<b>Figure 11 :</b> Résultats de l'identification colorimétrique du phosphate bicalcique.....	43
<b>Figure 12 :</b> Spectre d'absorption de la vitamine D2 par spectrophotométrie Infrarouge (Essai) .....	44
<b>Figure 13 :</b> Spectre d'absorption de la vitamine D2 par spectrophotométrie Infrarouge (SCR).....	45
<b>Figure 14 :</b> Résultat de l'identification de l'acide ascorbique par spectrophotomètre d'absorption UV/VIS.....	46
<b>Figure 15:</b> Résultats de recherche des chlorures et des sulfates.....	48
<b>Figure 16 :</b> Aspect de la solution S et la solution témoin $J_{B7}$ .....	49
<b>Figure 17 :</b> Chromatogramme obtenu avec le témoin .....	50
<b>Figure 18 :</b> Chromatogramme obtenu avec l'essai.....	51

<b>Figure 19</b> : Aspect du produit fini FRUBIAL® faible .....	54
<b>Figure 20</b> : Chromatogramme obtenu avec l'essai du lot N <sup>0</sup> 172 .....	56
<b>Figure 21</b> : Chromatogramme obtenu avec la solution témoin.....	57
<b>Figure 22</b> : Résultats du contrôle microbiologique pratiqué sur le produit .....	59
<b>Figure 23</b> : Absence de mortalités dans le lot testé par le produit fini FRUBIAL® faible après 48h du gavage .....	61

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Groupes anatomiques (A) correspondant aux classes médicamenteuses selon la classification ATC.....	6
<b>Tableau II:</b> Composition chimique des principes actifs du médicament FRUBIAL <sup>®</sup> faible.....	8
<b>Tableau III:</b> Composition chimique des excipients du médicament FRUBIAL <sup>®</sup> faible.....	9
<b>Tableau IV:</b> Principales étapes de préparation et composition du produit fini FRUBIAL <sup>®</sup> faible (principes actifs +excipients).....	14
<b>Tableau V:</b> Etapes de la procédure d'analyse des caractères organoleptiques des principes actifs.....	23
<b>Tableau VI:</b> Etapes de la procédure d'analyse des caractères organoleptiques de l'excipient.....	24
<b>Tableau VII:</b> Réactions d'identification chimique du phosphate bicalcique.....	25
<b>Tableau VIII:</b> Etapes de préparation de la solution à analyser et la solution témoin pour la recherche des chlorures et des sulfates.....	26
<b>Tableau IX:</b> Etape de la procédure de recherches des carbonates et du baryum.....	27
<b>Tableau X :</b> Etape de la procédure élaboré pour vérifier l'aspect de la solution S.....	29
<b>Tableau XI :</b> Préparation des solutions pour le dosage de la vitamine D2 par HPLC.....	31
<b>Tableau XII :</b> Etapes du dosage de la vitamine D2 dans le produit fini par HPLC.....	34
<b>Tableau XIII :</b> Résultats de l'analyse des paramètres organoleptiques des matières premières utilisées.....	42
<b>Tableau XIV :</b> Résultats affichés par le chromatogramme obtenu avec la solution témoin...51	51
<b>Tableau XV :</b> Résultats affichés par le chromatogramme obtenu avec la solution à analyser.....	52
<b>Tableau XVI :</b> Résultats du dosage volumétrique de phosphate bicalcique et de l'acide ascorbique.....	53
<b>Tableau XVII :</b> Résultats affichés par le chromatogramme obtenu avec la solution à analyser.....	57
<b>Tableau XVIII :</b> Résultats obtenus à partir du chromatogramme de la solution témoin.....	58
<b>Tableau XIX :</b> Résultats du contrôle microbiologique du produit fini FRUBIAL <sup>®</sup> faible.....	59
<b>Tableau XX :</b> Résultats du contrôle toxicologique du produit fini FRUBIAL <sup>®</sup> faible.....	61

## Résumé

L'industrie pharmaceutique est un secteur qui gère l'élaboration, la fabrication et la mise sur le marché des produits pharmaceutiques bien surveillés, bien contrôlés tout au long de leur chaîne de production, ces produits doivent être conformes aux normes nationales et internationales.

L'objectif de notre étude consiste à réaliser un contrôle physico-chimique, microbiologique et toxicologique du médicament FRUBIAL® faible ampoule buvable, produit au niveau du site de production Biotic, situé au Gué de Constantine-Alger, ce médicament est constitué de trois principes actifs et de huit excipients différents. Parmi l'ensemble de ces constituants, nous sommes intéressées à l'étude de deux principes actifs (la vitamine D2 1500UI et le phosphate bicalcique 20,45mg) ainsi qu'à l'un de ses excipients : acide ascorbique.

Les analyses physico-chimiques réalisées se sont basées sur des tests d'identification par des méthodes chimiques, physiques et chromatographiques des matières premières (les deux principes actifs et l'excipient cités précédemment) ainsi que du produit fini, les résultats obtenus étaient satisfaisants et conformes aux normes décrites par la pharmacopée européenne et approuvées par la filiale Biotic du Groupe SAIDAL.

Le contrôle microbiologique du produit fini est basé sur un test de stérilité et de détection d'éventuelles proliférations microbiennes pouvant affecter la qualité du médicament, ce test a révélé l'absence totale de germes viables témoignant de sa bonne qualité microbiologique.

Par ailleurs, l'absence de mortalité chez les souris *Albinos* testées a permis de prouver l'innocuité du produit fini avant son entreposage et sa mise en vente.

**Mots clés** : FRUBIAL® faible, contrôle, qualité, physicochimique, microbiologique, toxicologique.

## Abstract

The pharmaceutical industry is a sector that manages the development, manufacture and marketing of well-monitored and well-controlled pharmaceutical products throughout their production chain, which must comply with national and international standards.

The objective of our study is to carry out a physicochemical, microbiological and toxicological control of the drug FRUBIAL<sup>®</sup>low drinkable ampoule, produced at the Biotic production site, located at Gue de Constantine-Algiers, this drug consists of three active substances and eight different excipients. Among all these constituents, we were interested in the study of two active substance (vitamin D2 1500UI and dicalcium phosphate 20,45mg) as well as one of its excipients: ascorbic acid.

The physico-chemical analyses carried out were based on identification tests by chemical, physical and chromatographic methods of the raw materials (the two active and the excipient mentioned above) as well as of the finished product, the results obtained were satisfying and in conformity with the standards described by the European pharmacopoeia and approved by Biotic subsidiary of SAIDAL Group.

The microbiological control of the finished product is based on a sterility test and the detection of possible microbial proliferation that could affect the quality of the medicine, this test revealed a total absence of viable germs testifying its good microbiological quality.

In addition, the absence of mortality in *Albinos* mice tested proved the safety of the finished product before its storage and commercialization.

**Key words:** FRUBIAL<sup>®</sup>low, control, quality, physicochemical, microbiological, toxicological.

## ملخص

صناعة المستحضرات الصيدلانية هي قطاع يدير تطوير، تصنيع وتسويق المنتجات الصيدلانية الخاضعة للمراقبة الجيدة والتي يتم التحكم فيها جيدا طوال سلسلة إنتاجها. وبجب أن تتوافق هذه المنتجات مع المعايير الوطنية والدولية.

يتمثل الهدف من دراستنا في إجراء مراقبة فيزيوكيميائية وميكروبيولوجية وسمية للدواء فريبال® ضعيف أمبولة صالحة للشرب، يتم إنتاجه على مستوى موقع الإنتاج ببيوتيك الواقع بجسر قسنطينة في الجزائر العاصمة. يتكون هذا الدواء من ثلاث عناصر فعالة وثمانية سواغات مختلفة، من بين كل هذه المكونات كنا مهتمين بدراسة عنصرين فعالين (فيتامين د 2 و1500 و.د، ثنائي فوسفات الكالسيوم 20,54 ملغ) بالإضافة إلى أحد سواغات: حمض الاسكوربيك.

استندت التحليلات التي تم إجرائها على اختبارات تعريف المواد الخام بطرق فيزيوكيميائية وكماتوغرافية (للعناصر الفعالة والسواغ المذكورة أعلاه) بالإضافة الى المنتج النهائي، كانت النتائج التي تم الحصول عليها مرضية ومتوافقة مع المعايير الموضحة من قبل دستور الأدوية الأوروبي والمعتمدة من قبل شركة بيوتيك التابعة للمجمع صيدال.

تعتمد المراقبة الميكروبيولوجية للمنتج النهائي على اختبار التعقيم والكشف عن الانتشار الميكروبي المحتمل الذي يمكن أن يؤثر على جودة الدواء، وقد كشف هذا الاختبار عن الغياب التام للجراثيم الحية شاهدا بذلك على نوعيته الميكروبيولوجية المناسبة.

بالإضافة الى ذلك، فإن عدم وجود نفوق في الفئران البيضاء التي تم اختبارها ساهم في اثبات نقاوة المنتج النهائي قبل تخزينه وبيعه.

**كلمات مفتاحية:** فريبال® ضعيف، مراقبة، جودة، فيزيائية كيميائية، ميكروبيولوجية، سمية.

# Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

**Introduction.....1**

**Chapitre I : Synthèse bibliographique**

**I.1. Généralités sur les médicaments.....2**

**I.1.1. Définition d'un médicament.....2**

**I.1.2. Origine des médicaments.....2**

**I.1.3. Type des médicaments.....4**

**I.1.3.1. Médicaments princeps.....4**

**I.1.3.2. Médicaments génériques.....4**

**I.1.4. Composition des médicaments..... ?.....5**

**I.1.4.1. Principe Actif.....5**

**I.1.4.2. Excipient.....5**

**I.1.5. Classification des médicaments.....5**

**I.2. Généralités sur le médicament FRUBIAL® faible.....7**

**I.2.1. Description de FRIBUAL® faible solution buvable en ampoule.....7**

**I.2.2. Composition chimique.....7**

**I.2.3. Indications et contre-indications.....9**

**I.2.4. La vitamine D.....10**

**I.2.4.1. Pharmacocinétique de la vitamine D.....10**

**I.2.4.2. Pharmacodynamique de la vitamine D.....11**

**I.2.4.3. La vitamine D et COVID-19.....12**

I.2.5. Procédure de fabrication.....	12
<b>I.3. La qualité d'un médicament.....</b>	<b>14</b>
I.3.1. Définition de la qualité.....	14
I.3.2. Assurance de qualité.....	15
I.3.3. Le contrôle de qualité.....	15
I.3.3.1. Contrôle physicochimique.....	16
I.3.3.2. Contrôle microbiologique.....	16
I.3.3.3. Contrôle Toxicologique.....	16
<b>I.4. Bases réglementaires.....</b>	<b>17</b>
I.4.1. Les bonnes pratiques de fabrication.....	17
I.4.2. Pharmacopée européenne.....	17
<b>Chapitre II: Matériel et méthodes</b>	
II.1. Présentation de l'organisme d'accueil SAIDAL.....	18
II.2. Matériel.....	19
II.2.1. Matériel Biologique.....	19
II.2.2. Matériel non biologique.....	19
II.3. Méthodes .....	20
II.3.1. Echantillonnage.....	20
II.3.2. Analyse des matières premières et du produit fini.....	20
II.3.2.1. Contrôle physico-chimique.....	22
II.3.2.1.1. Contrôle organoleptique des matières premières.....	22
II.3.2.1.2. Contrôle physico-chimique des matières premières.....	24
II.3.2.1.2.1. Contrôle physicochimique du phosphate bicalcique.....	24
II.3.2.1.2.2. Contrôle physicochimique de la vitamine D2.....	27
II.3.2.1.2.3. Contrôle physico-chimique de l'excipient (Acide ascorbique) .....	28
II.3.2.1.3. Contrôle biochimique des matières premières.....	30
A.2.3. Dosage volumétrique de l'excipient acide ascorbique.....	32
II.3.3. Analyse du produit fini.....	33
II.3.3.1. Contrôle physico-chimique du produit fini.....	33

II.3.3.2. Contrôle biochimique du produit fini.....	34
II.3.3.2. Contrôle microbiologique du produit FRUBIAL® faible.....	37
II.3.3.3. Contrôle toxicologique du produit fini FRUBIAL® faible.....	40
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
III.1. Résultats de l'analyse des matières premières.....	42
III.1.1. Résultats du contrôle physico-chimique.....	42
III.1.1.1. Caractérisation organoleptique.....	42
III.1.1.2. Résultats des analyses qualitatives des matières premières.....	43
III.1.1.2.1. Résultats de l'identification de phosphate bicalcique par réaction colorimétrique.....	43
III.1.1.2.2. Résultats d'identification de la vitamine D2 par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge.....	44
III.1.1.2.3. Résultats de l'identification de l'acide ascorbique par analyse au spectrophotomètre d'absorption UV/VIS.....	46
III.1.1.3. Résultats des analyses semi-quantitatives des matières premières.....	47
III.1.1.3.1. Résultat de pouvoir rotatoire spécifique.....	47
III.1.1.3.2. Résultats des analyses semi-quantitatives pour le principe actif phosphate bicalcique.....	47
III.1.1.3.2.1. Résultats de la recherche des impuretés inorganiques.....	47
III.1.1.3.3. Résultats des analyses semi-quantitatives pour l'excipient acide ascorbique.....	49
III.1.2. Résultats du contrôle biochimique des matières premières.....	50
III.1.2.1. Analyses quantitatives (Dosages).....	50
III.1.2.1.1. Dosage de la vitamine D2 par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	50
III.1.2.1.2. Dosages volumétriques.....	52
III.2. Résultats de l'analyse du produit fini.....	53
III.2.1. Résultats du contrôle physico-chimique du produit fini.....	53
III.2.1.1. Caractères organoleptiques.....	53
III.2.1.2. Résultats des analyses qualitatives.....	54
III.2.1.2.1. Volume moyen.....	54
III.2.1.2.2. Mesure du pH.....	55
III.2.2. Contrôle biochimique de produit fini .....	55

<b>III.2.2.1. Analyses quantitatives (Dosages).....</b>	<b>55</b>
<b>III.2.2.1.1. Résultats du dosage par titrage volumétrique.....</b>	<b>55</b>
<b>III.2.2.1.2. Résultat du dosage par chromatographie liquide à haute performance.....</b>	<b>56</b>
<b>III.2.3. Résultats du contrôle microbiologique du produit fini FRUBIAL® faible.....</b>	<b>59</b>
<b>III.2.4. Résultats du contrôle toxicologique du produit fini FRUBIAL® faible.....</b>	<b>61</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>63</b>

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

# INTRODUCTION

En Algérie, L'industrie pharmaceutique a pour vocation de développer les moyens de production et de recherche afin d'offrir aux populations les meilleurs médicaments pour les consommateurs. Les forces et les faiblesses de l'industrie pharmaceutique sont le reflet fidèle des différentes politiques économiques de ce que notre pays a vécu depuis l'indépendance en 1962(**Gachout et al., 2017**).

Dans ce contexte ,la production des médicaments repose sur des règlementations bien définis et doit répondre à des normes de qualités nationales, européennes ou internationales très strictes, garantissant ainsi le respect de l'hygiène , la qualité, la sécurité et l'efficacité du médicament afin d'assurer un niveau de sureté pour le patient (**Babtiste, 2020**).

Cependant, la qualité d'un médicament à effet thérapeutique est définit par deux critères importants : l'efficacité thérapeutique de la substance active ainsi que sa sécurité toxicologique. Cette substance est à l'origine le résultat de plusieurs étapes qui sont résumés par une étape de criblage, une phase préclinique et plusieurs phases cliniques (**Gana, 2015**).

Afin d'assurer et améliorer la qualité de leurs produits, les industries pharmaceutiques doivent maîtriser les propriétés physico-chimiques et les bio-contaminations de ces derniers tout en assurant le contrôle microbiologique et physico-chimique ainsi que le contrôle toxicologique des médicaments. Cette activité est exercée par les laboratoires pharmaceutiques et les sociétés de biotechnologie de ces secteurs industriels (**NgonoMballa et al., 2019**).

Ce travail a été élaboré au sein de site de production pharmaceutique SAIDAL sur le médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible (soluté buvable en ampoule) du lot N°172, dans le but de contrôler sa qualité physico-chimique, biologique et de suivre sa chaine de production. Ce choix a été motivé par sa grande importance dans le traitement des troubles du métabolisme phosphocalcique ainsi que par la large utilisation qu'a connue ce produit depuis la déclaration de la pandémie du Sars-Cov-19.

Ce mémoire s'articule principalement sur trois chapitres, le premier chapitre est réservé à l'étude bibliographique qui comporte des notions générales sur les médicaments, des renseignements concernant le médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible, ainsi que l'intérêt du contrôle de la qualité des produits pharmaceutiques. Le deuxième chapitre consiste en une étude expérimentale dans laquelle nous avons décrit tous le matériel et les méthodes utilisés.

Enfin, le dernier chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus dans cette étude.

**SYNTHÈSE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## I.1. Généralités sur les médicaments

### I.1.1. Définition d'un médicament

Un médicament est une substance thérapeutique pharmacologiquement active, conçue et/ou validé par la recherche médicale, produit de manière industrielle et dont la vente et l'usage sont autorisés et régis par des instances sanitaires (**Desclaux et Ergot., 2015**).

Autrement dit, il peut être défini comme un produit naturel, une substance chimique ou une préparation pharmaceutique destinée à être administrée à l'Homme ou à l'animal pour diagnostiquer ou traiter une maladie.

**D'après l'article L.5111-1 du code français de la santé publique (2007)**, le médicament est défini comme «une substance ou une composition ayant des propriétés thérapeutiques ou préventives d'une maladie de l'Homme ou de l'animal, et pouvant être administré à l'être humain et aux animaux en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier sa fonction physiologique en exerçant des effets pharmacologiques, immunologiques ou métaboliques ».

### I.1.2. Origines des médicaments

Il existe 6 origines différentes pour la conception des médicaments :

#### ➤ Origine végétale

Selon **Baaziz (2017)**, les médicaments d'origine végétale comportent de principes actifs qui sont considérés comme étant des substances chimiques définies et isolées à partir de plantes et obtenues par extraction et purification.

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme médicaments pour la prise en charge des pathologies humaines, en effet, elles offrent une source prometteuse de médicaments grâce aux composés phytochimiques d'intérêt thérapeutiques (**Ouédraogo et al., 2021**).

**Exemple :** Morphine, Digitaline, Quinine.

#### ➤ Origine animale

L'administration médicamenteuse des substances provenant de l'organisme animal appelée «Organothérapie ou Opothérapie» est aussi ancienne. L'organothérapie s'inscrit dans une tradition historique de l'usage des remèdes animaux et dans le contexte du concept des sécrétions internes, développés à partir des travaux de Claude Bernard en 1855 (**Schlienger, 2018**).

L'opothérapie concerne les organes d'animaux qui sont utilisés pour extraire divers produits tels que les hormones (insuline, hormones hypophysaires,...etc.), les anticoagulants (héparine) et les enzymes (pepsine, trypsine, etc.), couramment utilisés en thérapeutique. Les sels biliaires sont encore des précurseurs pour la synthèse des hormones sexuelles et cortico-surréaliennes. Les huiles de foie de poisson, quant à elles, sont une source de vitamines A et D (**Boutamina, 2014**).

➤ **Origine minérale**

Les produits d'origines minérales jouent généralement un rôle important dans la thérapie des tumeurs sous forme de médicaments ou de supports (**Zhong et al., 2022**). Elles sont utilisées comme principes actifs ou excipients.

**Exemple :**

Phosphate, Calcium, Magnésium.

➤ **Origine microbiologique**

Les micro-organismes jouent un rôle important dans le développement de la chimie des produits naturels et de la thérapie médicale. Plus de 120 des principaux médicaments utilisés sont obtenus à partir de micro-organismes, un grand nombre de leurs métabolites bioactifs sont utilisés en médecine, en agriculture et dans l'industrie, mais une centaine d'entre eux sont utilisés à des fins thérapeutiques (**Abdel-Razek et al., 2020**).

**Exemple :** Antibiotiques

➤ **Origine synthétique**

Les substances pharmaceutiques qui sont fabriquées à partir de réactions chimiques entre différents agents chimiques dans un laboratoire ou une industrie sont appelées médicaments synthétiques, suite au nombre important d'agents pathogènes qui sont devenus résistants à plusieurs médicaments naturels traditionnels comme les antibiotiques, les médicaments synthétiques offrent une plus grande efficacité thérapeutique contre ces souches résistantes (**Kiran et al., 2021**).

➤ **Origine biotechnologique**

La biotechnologie est un innovateur clé dans le développement des médicaments depuis l'année 1970. Le terme "biotechnologie" est ambigu. Pour certains, il s'agit de produits dérivés ou synthétisés biologiquement. Pour d'autres, il s'agit d'une approche consistant à utiliser les connaissances des systèmes vivants pour obtenir un nouveau produit. En effet, le

médicament biotechnologique est défini comme étant un produit médical biologique (par opposition à une molécule produite synthétiquement) (**Kinch, 2014**).

La méthode de génie génétique "biogénétique" est la dernière technologie pour obtenir des médicaments à partir de cellules vivantes (procaryotes ou eucaryotes) (**Boucenane, 2018**).

**Exemple :**

- Reproduction du fragment d'ADN.
- Introduction du fragment d'ADN dans la bactérie.
- Hormones synthétisées par des bactéries recombinées (insuline, GH, LH, FSH).

### **I.1.3. Types de médicaments**

Il existe deux types de médicaments : princeps et générique

#### **I.1.3.1. Médicaments princeps**

Un médicament dit « princeps » est un produit premier en principe actif (substance active isolée ou synthétisée par les laboratoires pharmaceutiques). C'est un médicament "original", protégé par un brevet à durée variable (environ 10-20 ans), garantissant que le laboratoire présenté pour son développement et son exclusivité de commercialisation, est la seule société capable de commercialiser un médicament contenant ce principe actif (**Goumri Said, 2020**).

#### **I.1.3.2. Médicaments génériques**

On définit par « médicament générique » un produit ayant la même composition qualitative et quantitative en principe actif que le « médicament d'origine », la même forme pharmaceutique et dont la bioéquivalence avec la spécialité de référence a été démontrée par des études de biodisponibilité appropriées (**Iskounen et al., 2017**).

La notion de médicament générique ne s'exprime pas de façon univoque. Selon son sens le plus souvent rencontré, il se réfère à un médicament qui a été l'objet d'un brevet expiré (ce médicament peut par la suite être fabriqué et mis sur le marché par plusieurs laboratoires pharmaceutiques) (**Zouanti, 2013**).

### **I.1.4. Composition des médicaments**

#### **I.1.4.1. Principe actif**

Selon la pharmacopée européenne : « une substance active est toute substance destinée à être utilisée pour la fabrication d'un médicament et qui, lorsqu'elle est utilisée dans sa production, elle devient une substance active du médicament. De telles substances sont

destinées à fournir une activité pharmacologique ou un autre effet direct pour le diagnostic, la guérison, l'atténuation, le traitement ou la prévention des maladies, ou à produire un effet sur la structure et la fonction du corps »(Ragued et Guerch, 2019).

#### I.1.4.2. Excipients

Les excipients sont des substances ou des composés, autres que le principe pharmaceutique actif et les matériaux d'emballage, qui affectent la qualité du produit fini et qui, dans certains cas, constituent la quasi-totalité de la formulation (Singh et Chaudhary, 2016).

Ce sont des substances qui font la promotion de médicaments sous forme de préparations galéniques adaptées à l'administration (figure 1). Ils comprennent notamment les colorants, les conservateurs, les diluants et les agrégats. L'excipient peut être à l'origine d'effets indésirables, notamment d'allergies : on parle alors d'excipients à effets notoires (Montastruc et al., 2020).

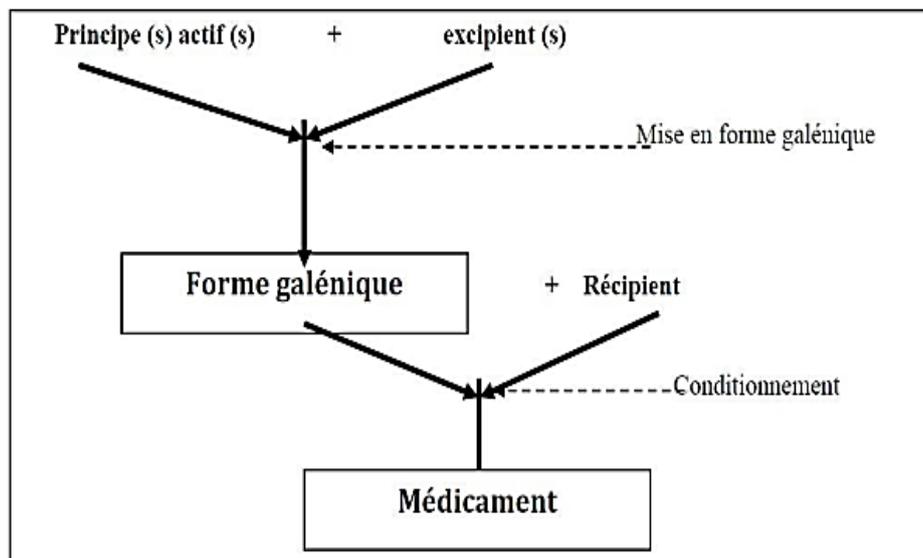


Figure 1 : Mise en forme d'un médicament (Talbert et al., 2001)

#### I.1.5. Classification des médicaments

La classification ATC (A = Anatomique ; T = Thérapeutique ; C = Codage chimique) est utilisée pour classer les médicaments en différents groupes. Le centre collaborateur de l'OMS pour les méthodes statistiques des médicaments contrôle cette classification (Moazami Omid, 2016). Un code ATC est un code en 7 parties (lettres et chiffres) propre à un principe actif donné qui indique sa place dans la classification.

Dans la classification ATC, les médicaments sont subdivisés en 14 catégories principales en fonction de l'organe ou du système dans lequel ils agissent (**Tableau I**).

Ils sont ensuite divisés en quatre classes supplémentaires en fonction de leurs propriétés chimiques, pharmacologiques et thérapeutiques (**Moazami Omid, 2016**).

**Tableau I** : Groupes anatomiques (A) correspondant aux classes médicamenteuses selon la classification ATC.

Groupe anatomique	Classe correspondante
A	Voies digestives et métabolisme
B	Sang et organes hématopoïétiques
C	Système cardiovasculaire
D	Médicaments dermatologiques
G	Systèmes génito-urinaire et hormones sexuelles
H	Hormones systémiques, hormones sexuelles exclues
J	Anti-infectieux généraux à usage systémique
L	Anti-néoplasiques et immuno-modulateurs
M	Muscles et squelette
N	Système nerveux
P	Anti-parasitaires, insecticides
R	Système respiratoire
S	Organes sensoriels
V	Divers

(**Moazami Omid, 2016**).

## I.2. Généralités sur le médicament FRUBIAL® faible

### I.2.1. Description de FRUBIAL® faible (solution buvable en ampoule)

FRUBIAL® faible un médicament sous forme d'ampoules buvables de 5 ml (**figure 2**). Il est fabriqué au sein du site de production de SAIDAL à Gué de Constantine /Alger, sous la dénomination commune internationale (DCI) : Ergocalciférol (Vitamine D2), Gluconate de calcium, Phosphate bicalcique.

Ce médicament fortifiant appartient à la classe thérapeutique : Métabolisme/ Nutrition/Diabète/Vitamine. La solution peut être absorbée pure ou diluée, de préférence le matin à jeun et à conserver à l'abri de la lumière (**Dossier pharmaceutique de SAIDAL, 2016**).



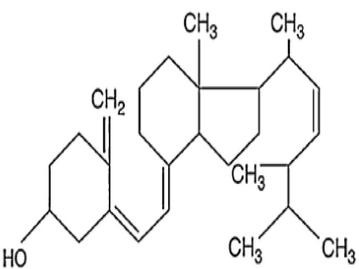
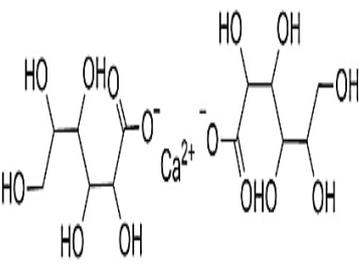
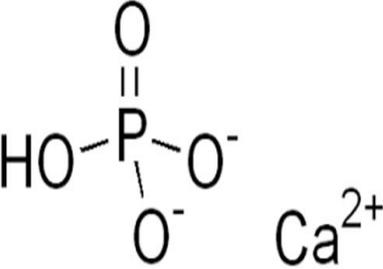
**Figure 2** : Aspect de l'emballage et des ampoules du médicament FRUBIAL® faible (solution buvable) (**Photo originale, 2022**).

### I.2.2. Composition chimique

Un médicament se compose de deux éléments : un principe actif caractérisé par un mécanisme d'action curatif ou préventif précis dans l'organisme et des excipients qui, à l'inverse, sont des substances neutres servant de support ou de véhicule (**Van Hoecke, 2016**), pour le médicament FRUBIAL® faible, ces éléments sont récapitulés dans les **tableaux II et III**.

 Principes actifs

**Tableau II** : Composition chimique des principes actifs du médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible.

Principes Actifs	Formule Chimique	Formule développée	Dosage pour une ampoule de 5ml	Références
<b>Vitamine D2 (Ergocalciférol)</b>	$C_{28}H_{44}$		<b>1500 U.I</b>	<b>(Mallet, 2014)</b>
<b>Gluconate de calcium</b>	$C_{12}H_{22}CaO_{14}$		<b>125,5mg</b>	<b>(Xiao-Long et al., 2019)</b>
<b>Phosphate bicalcique</b>	$CaHPO_4$		<b>20,45mg</b>	<b>(Meyer, 2022)</b>

### ✚ Excipients

**Tableau III :** Composition chimique des excipients du médicament FRUBIAL® faible.

Excipients	Formule chimique	Rôle	Dosage pour une ampoule de 5 ml
Acide Ascorbique (Vitamine C)	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	Antioxydant et conservateur	12,50mg
Acide Phosphorique 85%	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Acidifiant	35,75mg
Agar-Agar	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	Epaississant	2,90mg
Saccharose	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	Edulcorant	600mg
Caramel	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> + CH <sub>3</sub> (CHOH) <sub>n</sub> H	Colorant	20 µl
Jus d'orange	/	Aromatisant	2,82mg
Ethanol à 95 %	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	Solubilisant	2,50 µl
Eau purifiée	H <sub>2</sub> O	Solvant	5ml

(Pharmacopée européenne, 2017).

### I.2.3. Indications et contre-indications

#### ✚ Indications

Selon le résumé des caractéristiques du produit destiné à la santé publique (RCP) et le dossier pharmaceutique de SAIDAL(2016), le médicament FRUBIAL® faible est prescrit dans les cas suivants :

- ✓ Rachitisme (maladie du squelette se manifestant au niveau des zones osseuses à croissance rapide).
- ✓ Lymphatisme (trouble lié à une augmentation du volume des amygdales, ganglions)
- ✓ Croissance, anémie, fatigue générale.
- ✓ Besoins en calcium de la femme enceinte.
- ✓ Sujets âgés.
- ✓ Arrêt de la poussée dentaire.

### Contre-indications

Selon le RCP et le dossier pharmaceutique de SAIDAL(2016), le médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible est déconseillé dans les situations suivantes :

- ✓ Allergie à l'un des constituants, notamment à la vitamine D.
- ✓ Hypercalcémie (taux anormalement élevé de calcium dans le sang).
- ✓ Hypercalciurie (taux anormalement élevé de calcium dans les urines).
- ✓ Lithiase calcique (calcul rénal).

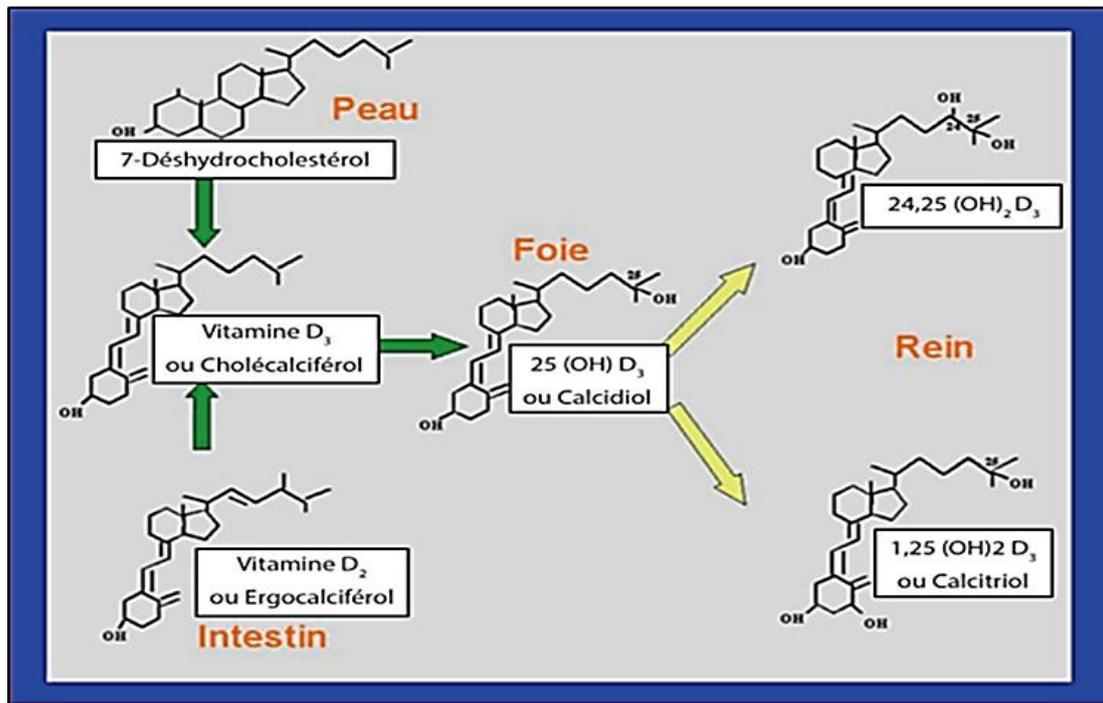
#### I.2.4. La vitamine D

La vitamine D est très importante pour la croissance et la santé osseuse. À côté de ses effets classiques bien connus sur le métabolisme phosphocalcique et osseux, elle a des effets de mieux en mieux documentés sur bien d'autres fonctions de l'organisme (Souberbielle, 2013).

Contrairement aux autres vitamines qui sont exclusivement apportées par l'alimentation, la vitamine D présente une double origine : exogène, qui correspond à l'apport alimentaire mais aussi endogène. Elle est présente dans notre alimentation sous deux formes : la vitamine D2 ou ergocalciférol produite essentiellement par les végétaux et les champignons et la forme de vitamine D3 ou Cholécalférol d'origine animale. Ces deux formes sont liposolubles et relativement stables, notamment à la chaleur (Landrier, 2014).

##### 1.2.4.1. Pharmacocinétique de la vitamine D

La vitamine D alimentaire est absorbée dans l'intestin grêle, incorporée dans les chylomicrons, puis transportée vers le foie, liée à la protéine de liaison de la vitamine D ou bien vitamin D-binding protein(DBP). Depuis le foie, la 25(OH)D se déplace jusqu'au rein en se liant à la DPB. Le rein hydroxyle ensuite la 25(OH)D en 1,25-dihydroxy vitamine D(1,25[OH]2D), qui est la forme la plus actives ou l'action de l'enzyme 1-alpha-hydroxylase. Une fois sous cette forme, la 1,25(OH)2D (calcitriol) se déplace vers le reste de l'organisme et vers toutes les cellules dotées de récepteurs de la vitamine D(**figure 3**). Le calcitriol a une demi-vie plus courte et n'est pas un bon indicateur du statut en vitamine D en l'absence de maladie rénale avancée, la vitamine D et ses métabolites sont principalement excrétés dans la bile et les fèces (Pfothenauer *al.*, 2017).



**Figure 3** : Structure des précurseurs et des métabolites de la vitamine D  
(Schlienger et Monnier, 2019).

#### 1.2.4.2. Pharmacodynamique de la vitamine D

Selon Landrier(2014), le métabolite actif de la vitamine D appelé le 1,25(OH)<sub>2</sub>D présente à la fois des actions génomiques et non génomiques.

##### ➤ Les actions génomiques

Les actions génomiques sont bien connues et font intervenir un récepteur cytoplasmique VDR (récepteur de la vitamine D), présent dans de nombreux tissus. Ce dernier appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires. Dans les cellules, la 1,25(OH)<sub>2</sub>D se lie au VDR. Le complexe VDR-1,25(OH)<sub>2</sub>D est dirigé vers le noyau où il se lie au récepteur de l'acide rétinoïque (RXR). Le complexe formé se lie à l'ADN sur des sites appelés « éléments de réponse à la vitamine D » (VDRE), avec lesquels l'expression est activée ou inhibée, régulant ainsi la synthèse de nombreuses protéines.

##### ➤ Les actions non génomiques

Ces actions du calcitriol dépendent d'un récepteur membranaire : la protéine disulfure isomérase famille A membre 3 (Pdia3), connue aussi sous les noms ERp57, GRP58 et 1,25D<sub>3</sub>-MARRS, son rôle a été bien décrit dans l'entérocyte, où il participe à l'absorption du calcium. Ce phénomène a également été décrit dans d'autres types cellulaires tels que les ostéoblastes les cellules du pancréas, où les cellules du foie.

### 1.2.4.3. La vitamine D et COVID-19

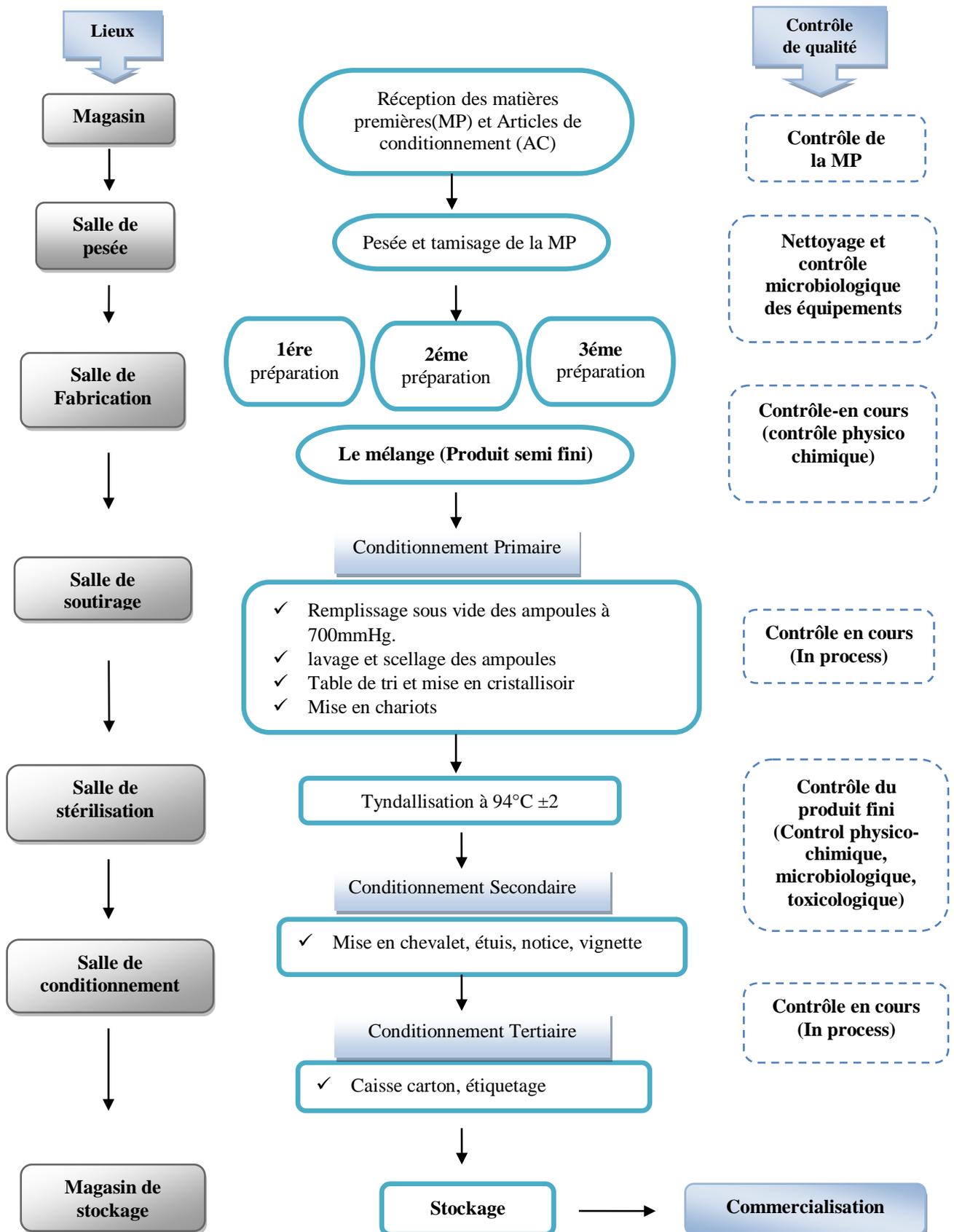
En dehors de son rôle bien connu dans le métabolisme du phosphate et du calcium, la vitamine D possède de nombreuses autres propriétés, notamment dans l'immunité. Le rôle de la vitamine D a été mis en lumière dans le contexte de la crise sanitaire due au Sars-CoV-2 (**Piroux, 2021**).

La compréhension du rôle des micronutriments essentiels dans le développement de nombreuses maladies a considérablement évolué au cours de la dernière décennie. Cependant, des recherches supplémentaires sont essentielles pour élucider le principal mécanisme d'action de la vitamine D dans la lutte contre les infections virales et pour démontrer des effets préventifs significatifs sur la morbidité et la mortalité grâce à des études d'intervention randomisées, en particulier pour le COVID-19. L'évaluation du statut en vitamines D et le maintien de taux sériques optimaux doivent être envisagés chez toute personne à risque de COVID-19.

La vitamine D interviendrait dans le risque infectieux pour ses effets sur l'immunité innée et adaptative. Au niveau du système immunitaire, deux propriétés sont connues : d'une part, la vitamine D inhibe la prolifération des lymphocytes T. En effet, la vitamine D ralentit les médiateurs pro-inflammatoires et stimule les cellules du système immunitaire : monocytes et macrophages, qui l'utilisent pour lutter contre le processus infectieux. Bien entendu qu'une supplémentation quotidienne ou hebdomadaire en vitamine D peut réduire le risque d'infections respiratoires virales aiguës, surtout en hiver. L'utilisation de la vitamine D dans les approches pharmaceutiques pour réduire le risque de COVID-19 mérite d'être envisagée (**Taqarort et Chadli, 2020**).

### 1.2.5. Procédure de fabrication

Les procédés de fabrication doivent être sélectionnés en fonction des objectifs à atteindre mais aussi du matériel utilisable. À chaque étape, les paramètres critiques, c'est-à-dire ceux dont les variations peuvent avoir une influence sur la qualité du produit fini, doivent être contrôlés par des moyens appropriés. Chaque option dans les protocoles de fabrication et de contrôle est à fixer en tenant compte des répercussions éventuelles sur l'homogénéité des lots, sur la stabilité du médicament et sur la biodisponibilité du PA (**Le Hir et al., 2009**). Cependant, les différentes phases de la chaîne de production du médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible sont détaillées dans le schéma ci-dessous (**figure 4**) et le **tableau IV**.



**Figure 4 :** Schéma général de la procédure de fabrication du médicament FRUBIAL® faible/ solution buvable en ampoule (Dossier pharmaceutique de SAIDAL, 2016).

**Tableau IV :** Principales étapes de préparation et composition du produit fini FRUBIAL® faible (principes actifs +excipients).

Préparations	Composition	Mode d'agitation
Préparation Primaire	Eau purifiée chaude phosphate bicalcique, Acide phosphorique	Agitation manuelle pendant 30 min
Préparation Secondaire	Eau purifiée chaude Saccharose Gluconate de calcium Caramel	Agitation pendant 1h à 100°C
Préparation Tertiaire	Eau purifiée Jus d'orange	Agitation pendant 2h
Le mélange (Produit fini)	Mélange des trois préparations précédentes et l'ajout de : - Agar-agar - Vitamine D <sub>2</sub> - Acide ascorbique - Ethanol à 96%	Agitation pendant 20 min

(Dossier pharmaceutique de SAIDAL, 2016).

### I.3. La qualité d'un médicament

#### I.3.1. Définition de la qualité

La norme ISO 9000 définit la qualité comme étant : "L'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences". Un produit ou service est de qualité si le client est satisfait après son utilisation, ainsi, le seul juge de la qualité dans l'entreprise est le client (Al mobakar, 2017).

L'objectif de l'industrie pharmaceutique est de produire des médicaments de qualité, et c'est une production maîtrisée grâce à une recherche clinique et préclinique approfondie, afin d'obtenir un rapport bénéfice/risque adéquat pour la satisfaction du patient.

Les médicaments de haute qualité peuvent être décrits par les situations suivantes :

- ✓ Efficace : Effet de traitement nécessaire et adéquat.
- ✓ Sûre : La santé du patient ne doit pas être mise en danger.
- ✓ Contrôlé par un système qualité : garantit sa reproductibilité.

Tous ces aspects sont décrits dans le document d'autorisation de mise sur le marché (AMM), c'est en quelque sorte la carte d'identité du produit, car elle associe l'efficacité et la sécurité du médicament (**Buisine, 2016**).

### **I.3.2. Assurance de qualité**

Comme son nom l'indique, l'assurance qualité (AQ) porte sur la qualité. La norme ISO 9000 dans sa version de l'année 2015, définit le concept de qualité comme « la capacité d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques d'un objet à satisfaire des exigences ». Parmi les quatre méthodes qualité communément identifiées (Maîtrise de la Qualité, Assurance Qualité, Qualité Globale, Qualité Intégrée), l'Assurance Qualité concerne principalement les processus qui peuvent assurer une adéquation entre la demande d'un marché et l'offre proposée par l'organisation pour y répondre (**Pierronnet, 2018**).

C'est un concept relativement nouveau, cela s'est produit pendant la seconde guerre mondiale, lorsque les industries spatiale et nucléaire étaient en plein essor. Son rôle est de prévoir et de minimiser l'apparition des non-conformités, afin de créer un produit répondant aux exigences du client (**Prévost, 2016**).

### **I.3.3. Le contrôle de qualité**

Le guide des bonnes pratiques de fabrication (BPF) définit le contrôle qualité (CQ) comme la vérification ou le contrôle de la conformité à une spécification. Cependant, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) le définit plus en détail comme toute mesure prise, y compris la spécification, l'échantillonnage, l'analyse et le traitement des données analytiques pour identifier les matières premières, les produits intermédiaires, les articles de conditionnement et le produit pharmaceutique final pour s'assurer que ces substances répondent aux spécifications établies (**Kouassi, 2020**). Le CQ comprend l'évaluation des propriétés physico-chimiques ainsi que l'évaluation de contaminants microbiologiques.

### I.3.3.1. Contrôle physico-chimique

Selon **Ragued et Guerch (2019)**, le contrôle physico-chimique se fait sur :

#### + Les matières premières

L'objectif est d'identifier puis de caractériser la matière première avant son incorporation dans le processus de production en analysant plusieurs paramètres tels que: la pureté, la concentration, la teneur en eau, ...etc.

#### + La forme intermédiaire

Une forme intermédiaire est un produit ayant atteint l'une des étapes de fabrication du médicament et destiné à entrer dans une nouvelle étape du processus de fabrication. Elle varie d'une forme pharmaceutique à l'autre, comme le mélange final avant compression, et avant pelliculage des comprimés non pelliculés, ainsi elle doit faire l'objet d'un contrôle qualité. Le test de contrôle physico-chimique de type intermédiaire dépend de la forme galénique à analyser.

#### + Le produit fini

Après conditionnement, le produit fini est inspecté au niveau du laboratoire de contrôle qualité, par plusieurs tests tels que : le test de dissolution, le dosage des PA,...etc.

### I.3.3.2. Contrôle microbiologique

Le contrôle microbiologique fait partie intégrante du contrôle qualité dans le processus de fabrication pharmaceutique. Il traverse toute la chaîne de production, des matières premières aux produits finis. L'analyse microbiologique doit être capable d'isoler et d'identifier des micro-organismes spécifiques (méthodes qualitatives) ou de quantifier des groupes spécifiques de bactéries dans un échantillon (méthodes quantitatives) (**Ragued et Guerch, 2019**).

### 1.3.3.3. Contrôle toxicologique

La toxicologie est l'étude des poisons et de la toxicité des organes, elle se concentre sur les effets nocifs des médicaments et des produits chimiques ainsi que sur les mécanismes par lesquels ces substances produisent des changements pathologiques, des maladies et/ou la mort (**George et al., 2012**).

Le contrôle toxicologique est défini par un ensemble de panneaux de contrôle préconstruits, basés sur la connaissance du produit et du processus de fabrication, qui garantissent la performance du procédé ainsi que la qualité du produit fini (**Amara et Telli, 2020**).

#### **I.4. Bases réglementaires**

##### **I.4.1. Les bonnes pratiques de fabrication**

L'OMS définit les bonnes pratiques de fabrication (BPF) comme « 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 leur utilisation et spécifiées dans l'autorisation de mise sur le marché » (**Baptiste, 2020**).

Selon **Zamble Orphee (2008)**, l'objectif principal des BPF est de réduire les risques inhérents à la fabrication de tout produit pharmaceutique qui ne peuvent être complètement éliminés par le contrôle de la qualité du produit fini. Ces risques sont de deux types principaux :

- ✓ Contamination croisée (surtout contamination accidentelle).
- ✓ Confusion causée par un étiquetage incorrect des récipients.

##### **I.4.2. La pharmacopée européenne**

La pharmacopée européenne est un ouvrage de référence pour les pharmaciens industriels. Elle précise les règles et restrictions à respecter dans le processus de fabrication ou de contrôle de produits (médicaments) destinés à l'usage humain ou vétérinaire selon des spécifications généralement acceptées. Ces spécifications participent à la protection de la santé publique (**Pont, 2011**).

Elle définit également les formes pharmaceutiques (ou galéniques) avec leurs critères de qualité et les tests qui doivent être effectués pour vérifier ces critères de qualité (**Ragued et Guerch, 2019**).

# MATÉRIEL ET MÉTHODES

## **II.1. Présentation de l'organisme d'accueil SAIDAL**

SAIDAL est le premier laboratoire pharmaceutique en Algérie producteur des médicaments génériques. Il a été créé en 1982 pour répondre au besoin d'établir une industrie pharmaceutique locale, afin de garantir l'approvisionnement en médicaments et améliorer l'accès des citoyens aux soins, il est aujourd'hui organisé comme un groupe industriel spécialisé dans le développement, la production et la commercialisation des produits pharmaceutiques à usage humain. En 1997, la société SAIDAL a mis en œuvre un plan de restructuration qui s'est traduit par sa transformation en groupe industriel incluant trois filiales: Pharmal, Antibiotical et Biotic.

Notre stage a été réalisé au sein du site de production de l'unité BIOTIC, située au Gué de Constantine (GDC-Alger), durant trois mois allant de Mars au mois de Mai. Ce site de production possède cinq ateliers de fabrication répartis comme suit :

- ✓ Trois ateliers de production de différents médicaments (atelier pour ampoules buvables, suppositoires et comprimés).
- ✓ Deux ateliers pour les solutés massifs (atelier de solutés massifs en poches et en flacons).

Il comporte également des laboratoires de contrôle de qualité, prenant en charge des analyses physico-chimiques, microbiologiques et toxicologiques ainsi qu'un service de la gestion technique et documentaire.

En outre, ce site comprend un département animalerie qui contient un laboratoire d'élevage des animaux, il s'agit principalement de rats, de souris et de lapins. L'animalier de ce laboratoire entretient les animaux nécessaires aux travaux et prépare leur mise à disposition pour les expérimentations dans le respect du cadre législatif, de la réglementation et des règles d'hygiène et de sécurité.

Au cours du stage que nous avons réalisé au sein de cet établissement, nous nous sommes intéressées au contrôle de la qualité physico-chimique, biochimique, microbiologique et toxicologique du médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible durant son processus de fabrication à l'échelle industriel.

## II.2. Matériel

### II.2.1. Matériel Biologique

Les essais de contrôle toxicologique ont été pratiqués sur des souris *Albinos* de sexe mâle, dont le poids varie de 17 à 24 g, provenant de l'animalerie du site de production. Ces animaux ont été soumis aux conditions d'hébergement suivantes :

- **Cage** : cage rectangulaires en polypropylène (longueur : 435 mm, largeur : 290 mm et hauteur : 140 mm). Les grilles de cette cage sont conçues pour s'adapter à une deuxième grille pour un empilage facile, avec une cloison pliable pour le compartiment à nourriture et le compartiment à eau.
- **Température** : 20 à 24°C.
- **Humidité** : 50 à 70 %.
- **Photopériode** : 16h lumière /8h obscurité.
- **Régime alimentaire**
  - **Alimentation** : granulés complets.
  - **Boisson** : eau potable.

### II.2.2. Matériel non biologique

Il est représenté principalement par la verrerie, les appareillages et les réactifs (**voir annexe A**). Ces derniers ont été utilisés pour réaliser une série d'analyses et de tests sur :

- Les matières premières analysées:
  - ✓ Phosphate bicalcique
  - ✓ Vitamine D2 (ergocalciférol)
  - ✓ Vitamine C (acide ascorbique)

}	Principes actifs
}	Excipient
- Le produit fini :
  - ✓ FRUBIAL® faible ampoule buvable

**Remarque** : ce médicament fortifiant comporte dans sa composition plusieurs composants, cependant, nous n'avons été autorisés qu'à l'analyse d'un seul excipient: l'acide ascorbique.

## II.3. Méthodes

### II.3.1. Echantillonnage

L'échantillonnage est une opération importante dans laquelle seule une petite fraction de la matière première ou du produit fini est utilisée dans un but précis. Elle est réalisée dans des conditions stériles et à l'aide d'équipements et d'outils appropriés.

#### ❖ Echantillonnage des matières premières

Le prélèvement des matières premières (principes actifs et excipients) a été réalisé par des sondes métalliques stériles et de manière aléatoire à partir de sacs en polyéthylène stockés dans des cuves. Les étapes d'échantillonnage sont les suivantes :

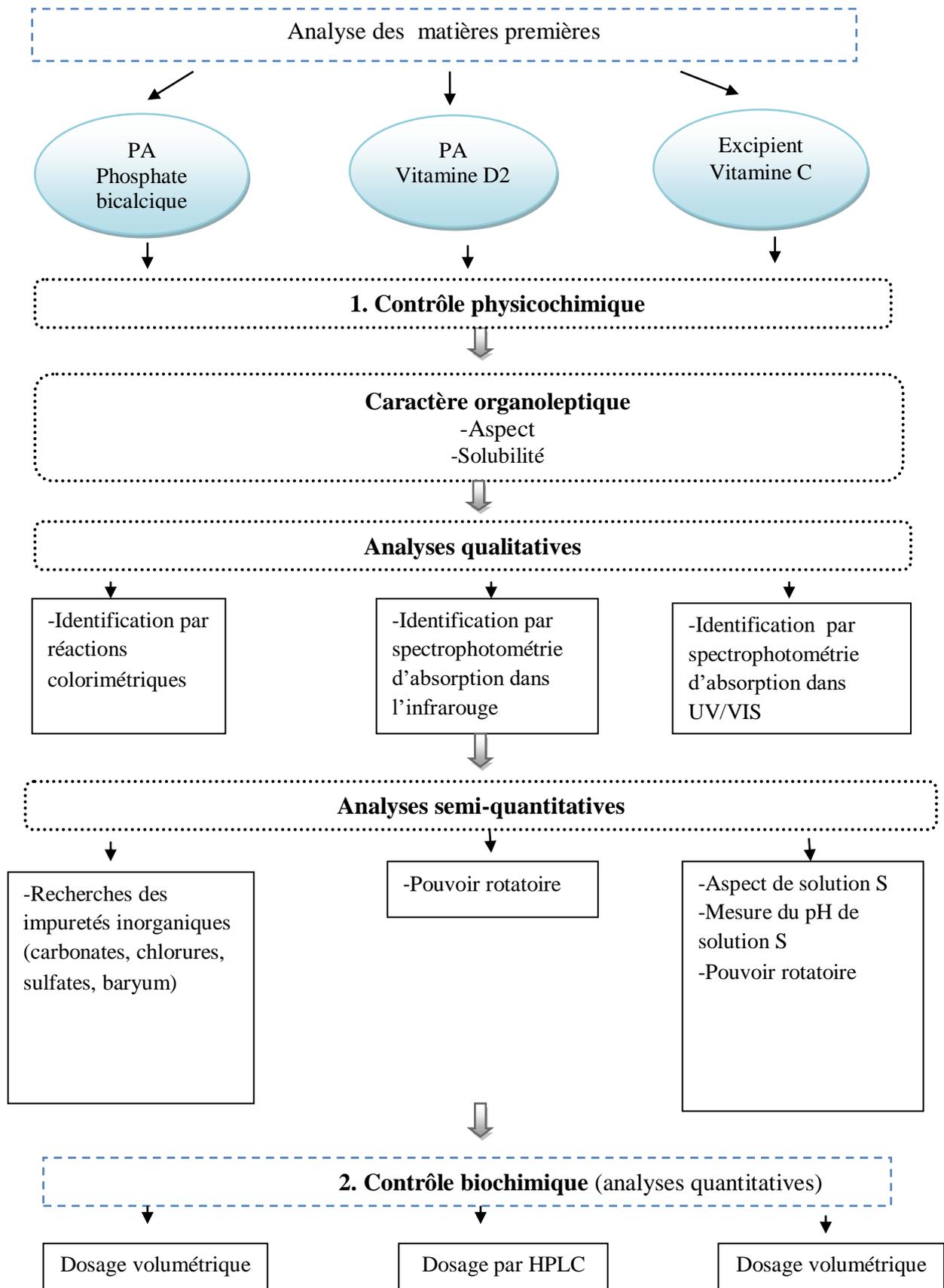
- Ouverture de l'emballage et le contrôle visuel initial de la couleur, de l'odeur et de l'aspect de chaque matière première.
- Introduction de la spatule dans le fût et prélèvement des échantillons à différents endroits.
- Placer les échantillons dans des récipients (un pour l'analyse et l'autre pour l'archivage comme échantillon de référence pour éviter toute contamination) sur lesquels on mentionne : le nom, le numéro du lot, la quantité et la date de prélèvement ainsi que la date de péremption.
- Fermeture de l'emballage après le prélèvement de l'échantillon.

#### ❖ Echantillonnage du produit fini

Le prélèvement du produit fini est effectué depuis la chaîne de production de FRUBIAL<sup>®</sup> faible à des intervalles de temps bien définis, au fur et à mesure que la chaîne de production avance (du début à la fin de la production).

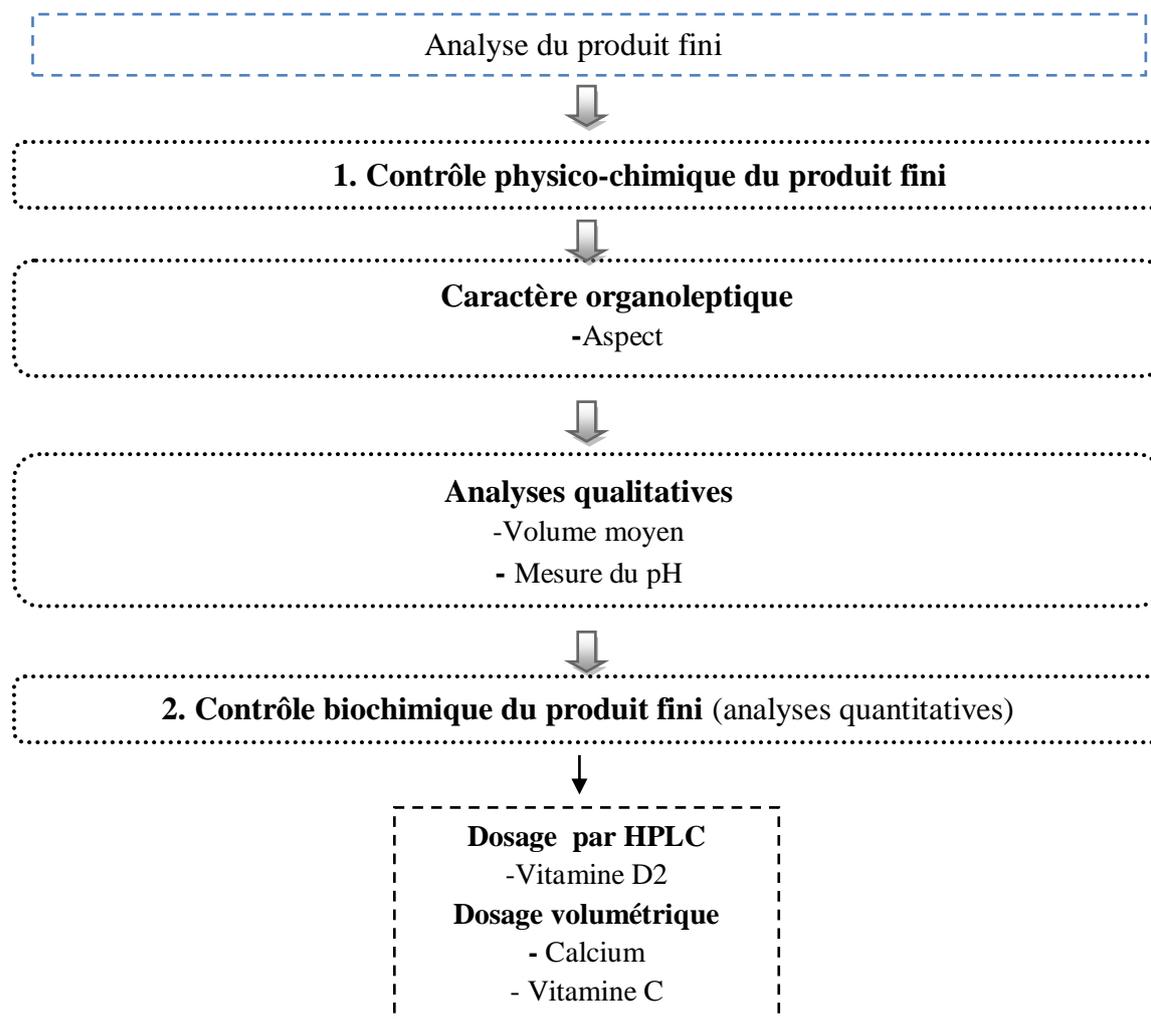
### II.3.2. Analyse des matières premières et du produit fini

L'analyse effectuée pour le contrôle des matières premières et du produit fini repose sur l'étude des caractères organoleptiques, l'identification des composées, les essais limites et le dosage. Tous les protocoles expérimentaux du contrôle physico-chimique, utilisées dans cette étude sont ceux décrits par la **pharmacopée européenne (2017)** et approuvés par les laboratoires SAIDAL. Le schéma représenté dans **la figure 5** récapitule les différentes opérations effectuées pour le contrôle des matières premières utilisées pour la fabrication du médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible.



**Figure 5** : Schéma récapitulatif des étapes effectuées pour l'analyse des matières premières (principes actifs+excipient).

Le schéma ci-dessous (**figure 6**) représente les étapes des opérations effectuées pour le contrôle du produit fini.



**Figure 6** : Schéma récapitulatif des étapes effectuées pour l'analyse du produit fini FRUBIAL® faible.

### II.3.2.1. Contrôle physicochimique

#### II.3.2.1.1. Contrôle organoleptique des matières premières

Le contrôle des caractères organoleptiques permet de réunir à titre indicatif des données concernant leur identification et leur différenciation. La caractérisation organoleptique concerne principalement : l'aspect, l'odeur et la solubilité (**Sidibe, 2011**).

#### A. Contrôle organoleptique des principes actifs

Le tableau V synthétise les modalités d'analyse organoleptique pour les principes actifs (phosphate bicalcique, vitamine D2) selon le protocole décrit par la **pharmacopée européenne (2017)**.

**Tableau V:** Etapes de la procédure d'analyse des caractères organoleptiques des principes actifs

		Aspect	Solubilité
Phosphate bicalcique	Mode opératoire	Prendre une petite quantité de la poudre de phosphate bicalcique et la mettre sur une feuille blanche. L'aspect de la poudre est estimé visuellement.	Introduire une quantité de 2 g de la poudre de phosphate bicalcique dans quatre tubes à essais : le premier tube contient 5 ml d'eau distillée, le deuxième tube comporte 5ml d'éthanol à 96%, alors que les deux tubes restants contiennent 5 ml d'acide chlorhydrique dilué R et 5 ml de l'acide nitrique dilué R respectivement. Ensuite agiter à l'aide d'un vortex et par une évaluation visuelle, déterminer la solubilité.
	Norme	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche.	La substance est pratiquement insoluble dans l'eau distillée et dans l'éthanol à 96%, cependant, elle est parfaitement soluble dans l'acide chlorhydrique dilué R et l'acide nitrique dilué R.
Vitamine D2	Mode opératoire	Prendre une petite quantité de la poudre de Vitamine D2 et la mettre sur une feuille blanche. L'observation est effectués directement à l'œil nu.	Placer séparément une quantité de la prise d'essai dans trois tubes à essais contenant successivement de l'eau distillée, de l'éthanol à 96% et du méthanol. Effectuer l'analyse à une température optimale et à l'abri de la lumière.
	Norme	Poudre cristalline blanche /faiblement jaunâtre ou cristaux blancs/ sensiblement blancs.	Pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol à 96% et dans le méthanol.

**Remarque :** la méthode de préparation des solutions réactionnelles diluées (acide chlorhydrique dilué R, acide nitrique dilué R est détaillée en **annexe A.4**.

### B. Contrôle organoleptique de l'excipient

Le tableau VI récapitule la procédure d'analyse de l'acide ascorbique (vitamine C) utilisé comme excipient, selon le protocole décrit par **la pharmacopée européenne (2017)**.

**Tableau VI:** Etapes de la procédure d'analyse des caractères organoleptiques de l'excipient

		Aspect	Solubilité
Acide ascorbique	Mode opératoire	Prendre une petite quantité de la poudre d'acide ascorbique et la mettre sur un récipient puis observer son aspect à l'œil nu.	Introduire séparément une quantité de la poudre de l'acide ascorbique dans deux tubes à essais et ajouter de l'eau distillée dans le premier tube, et l'éthanol à 96% dans le deuxième tube, puis observer sa solubilité à l'œil nu.
	Norme	Poudre cristalline, blanche/sensiblement blanche, ou cristaux incolores qui se colorent par exposition à l'air et à l'humidité (elle s'oxyde et vire au jaune safran).	Facilement soluble dans l'eau, assez soluble dans l'éthanol à 96%.

### II.3.2.1.2. Contrôle physico-chimique des matières premières

#### II.3.2.1.2.1. Contrôle physico-chimique du phosphate bicalcique

##### A. Analyses qualitatives

##### A.1. Identification par réaction colorimétrique

Selon **Abbas (2010)**, l'identification du point de vue physico-chimique permet d'assurer la pureté, l'authenticité et la caractérisation d'une matière ou d'un produit à savoir faire une analyse spectrale par différentes méthodes.

Les méthodes d'identification du PA les plus citées par les pharmacopées sont : la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge, la chromatographie sur couche mince (CCM) et les réactions chimiques caractéristiques du PA (réactions colorimétriques en tube par exemple) (**Ragued et Guerch, 2019**).

Le tableau VII présente le protocole utilisé pour l'identification du phosphate bicalcique.

**Tableau VII:** Réactions d'identification chimique du phosphate bicalcique

	Mode opératoire	Norme
<b>Réaction colorée 1</b>	Dans une fiole de 50 ml, dissoudre en chauffant 0,1g de phosphate bicalcique dans 10 ml d'acide chlorhydrique dilué R, ensuite ajouter 2,5 ml d'ammoniaque diluée R1, agiter manuellement et ajouter 5 ml d'une solution d'oxalate d'ammonium à 35 g/l.	Formation d'un précipité blanc.
<b>Réaction colorée 2</b>	Dans une fiole de 50 ml, dissoudre 0,1 g de phosphate bicalcique dans 5 ml d'acide nitrique dilué R, ensuite ajouter 2 ml de solution de molybdate d'ammonium R et chauffer le mélange à 70°C pendant 2 min.	Formation d'un précipite jaune.

**Remarque :** la méthode de préparation des solutions réactionnelles diluées (acide chlorhydrique dilué R, acide nitrique dilué R, ammoniaque diluée R1) est détaillée en **annexe A.4**.

## B. Analyses semi-quantitatives (essais limites)

### B.1. Recherche des impuretés inorganiques

Les impuretés présentes dans les substances actives ainsi que les excipients utilisées dans les produits pharmaceutiques peuvent avoir des conséquences plus ou moins graves pour la santé publique. Il existe de nombreux types d'impuretés. Celles-ci peuvent être classées en 3 grandes catégories : Impuretés organiques, impuretés inorganiques et les solvants résiduels. Les impuretés inorganiques font référence à des éléments tels que les catalyseurs chimiques sources courantes de métaux lourds, chlorures, sulfates, baryum,...etc. La présence potentielle de ces éléments est examinée systématiquement, puisqu'ils sont très couramment utilisés lors de la synthèse et sont nocif pour la santé (**Pont, 2011**).

#### ➤ Recherche des chlorures et des sulfates

Le tableau VIII indique les étapes à suivre pour la recherche des chlorures et des sulfates dans la substance à analyser.

**Tableau VIII:** Etapes de préparation de la solution à analyser et la solution témoin pour la recherche des chlorures et des sulfates

		Recherche des chlorures	Recherche des sulfates
<b>Mode opératoire</b>	Préparation de la solution à analyser	Dans un erlenmeyer, dissoudre 0,20g de la substance à analyser dans un mélange de 20 ml d'eau distillée et de 13 ml d'acide nitrique dilué R en le soumettant à un chauffage si nécessaire, puis compléter jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée, filtrer puis utiliser 50 ml de cette solution filtrée.	Dans un bécher, dissoudre 0,5 g de la substance à analyser dans 5 ml d'eau distillée et 5 ml de HCL dilué R, puis compléter le volume jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée, ensuite filtrer si nécessaire. Prélever dans une fiole 20 ml de cette solution, et ajouter 1 ml de HCL dilué R, puis compléter jusqu'à 50 ml avec de l'eau distillée.
	Préparation de la solution témoin	A 0,7 ml d'acide chlorhydrique 0,01M, ajouter 6 ml d'acide nitrique dilué R, puis compléter jusqu'à 50 ml avec de l'eau distillée. Ajoutez aux deux solutions 1 ml de nitrate d'argent R2 et mélanger, ensuite laisser reposer pendant 5 min à l'abri de la lumière.	Prélever dans un tube 1ml d'acide sulfurique 0,005M, ensuite ajouter 1ml d'acide chlorhydrique dilué R puis compléter jusqu'à 50 ml avec de l'eau distillée et filtrer si nécessaire.
<b>Norme</b>		Après 5 minutes à l'abri de la lumière, la solution à analyser présente une opalescence, pas plus prononcée que la solution témoin (au maximum 0,25%).	Après 10 minutes, la solution à analyser présente une opalescence, celle-ci ne doit pas être plus prononcée que la solution témoin (au maximum 0,5%).

**Remarque:** la méthode de préparation des solutions réactionnelles diluées est détaillée en annexe A.4.

➤ **Recherche des carbonates et du baryum**

Le tableau IX indique les étapes à suivre pour la recherche des carbonates et du baryum.

**Tableau IX:** Etape de la procédure de recherches des carbonates et du baryum

	<b>Recherche des carbonates</b>	<b>Recherche du baryum</b>
<b>Mode opératoire</b>	Dans un tube, mélanger 0,5 g de phosphate bicalcique avec 5 ml d'eau distillée puis ajouter 1ml de HCL R.	Dans une fiole de 50 ml, peser 0,5 g de phosphate bicalcique, et ajouter 10 ml d'eau distillée puis chauffer jusqu'à ébullition. Ensuite tout en agitant, ajouter goutte à goutte 1 ml de HCL R et laisser refroidir, ensuite filtrer si nécessaires. Après filtration, ajouter 2 ml d'une solution de sulfate di-potassique à 10 g/l et laisser reposer pendant 10 min.
<b>Norme</b>	Pas d'effet effervescent.	Pas de trouble.

### II.3.2.1.2.2. Contrôle physico-chimique de la vitamine D2

#### A. Analyses qualitatives

##### A.1. Identification par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge

Elle consiste à placer une petite quantité de poudre de la substance à analyser dans un spectrophotomètre IR qui donne un spectre caractéristique.

##### ▪ Mode opératoire

Examiner l'ergocalciférol par spectrophotomètre IR. Le spectre obtenu est comparé avec celui de l'ergocalciférol SRC (spectre de référence).

◆ **Norme** : Le spectre d'essai doit être semblable au spectre de référence.

#### B. Analyses semi-quantitatives

##### B.1. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire  $\alpha$  d'une molécule optiquement active représente sa capacité à faire tourner le plan de polarisation d'une lumière polarisée linéairement. Une molécule est dite dextrogyre, si la substance chirale fait tourner le plan de polarisation de cette lumière polarisée vers la droite pour un observateur qui regarde la lumière. Le pouvoir rotatoire  $\alpha$  est alors positif. Inversement, si la rotation se fait vers la gauche,  $\alpha$  est négatif et la substance est dite lévogyre. Ainsi, on associe à l'énantiomère un signe (+) pour dextrogyre et (-) pour lévogyre (Mosser, 2019).

- **Mode opératoire**

Dissoudre rapidement et sans chauffage 0,2 g d'ergocalciférol dans l'alcool exempt d'aldéhyde R (**annexe A.4.**) et compléter le volume jusqu'à 25 ml avec le même solvant. Mettre la solution préparée dans le polarimètre.

- ✓ Expression des résultats

$$[\alpha]^{20}_D = \frac{\alpha \times V}{P}$$

Avec :

$\alpha$  : angle de rotation en degré (°).

$V$ : volume total de la solution.

$P$ : poids de la prise d'essai (ergocalciférol) exprimé en g.

◆ **Norme** : Le pouvoir rotatoire de la vitamine D2 doit fluctuer entre +103° et +107°.

### II.3.2.1.2.3. Contrôle physico-chimique de l'excipient (Acide ascorbique)

#### A. Analyses qualitatives

##### A.1. Identification par analyse au spectrophotomètre d'absorption UV/VIS

La spectrophotométrie ultraviolette (UV) est une technique physique de la spectrophotométrie optique qui utilise la lumière dans les domaines du visible et de l'ultraviolet, elle est basée sur l'absorption de rayonnement par les molécules dans l'intervalle, allant de 190 à 800 nm qui correspond à l'ultraviolet (190-400 nm) et au visible (400-800 nm). Une molécule présente une absorption dans la région visible ou ultraviolet lorsque le rayonnement provoque une transition électronique dans sa structure. Le spectrophotomètre permet de mesurer la quantité de rayonnement absorbée dans les zones d'absorption spécifiques de la molécule à tester (**Govinda et Mishra, 2018**).

- **Mode opératoire**

Dissoudre 0,10 g d'acide ascorbique dans de l'eau distillée, et compléter immédiatement à 100 ml avec le même solvant. A 10 ml d'acide chlorhydrique à 10,3 g/l, ajouter 1 ml de cette solution puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée. Placer une petite quantité de la solution préparée dans la cuve du spectrophotomètre.

◆ **Norme** : le maximum d'absorption est mesuré à 243 nm.

## B. Analyses semi-quantitatives

### B.1. Pouvoir rotatoire

#### ▪ Mode opératoire

Dissoudre 2,5 g d'acide ascorbique dans de l'eau distillée et compléter le volume jusqu'à 25 ml avec le même solvant. Mettre la solution préparée dans le polarimètre.

✓ Expression des résultats

$$[\alpha]^{20}_D = \frac{\alpha \times V}{P}$$

Avec :

$\alpha$ : angle de rotation en degré (°).

V: volume total de la solution.

P: poids de la prise d'essai (acide ascorbique) exprimé en g.

◆ **Norme** : Le pouvoir rotatoire de l'acide ascorbique doit être compris entre +20,5° à +21,5°.

### B.2. Caractérisation générale

#### ➤ Aspect de la solution S

Le tableau X indique les étapes élaborées pour vérifier l'aspect de la solution S.

**Tableau X** : Etape de la procédure élaborée pour vérifier l'aspect de la solution S

<b>Mode opératoire</b>	Préparation de la solution S	Solubiliser 1 g d'acide ascorbique dans de l'eau distillée et compléter à 20 ml avec le même solvant. Comparer la solution analysée avec la solution témoin <i>JB</i> <sub>7</sub> , puis par un simple examen visuel, comparer l'aspect des deux solutions.
	Préparation de la solution JB et <i>JB</i> <sub>7</sub>	<p>✓ Solution étalon JB (jaune – brun) :</p> <p>Mettre dans une fiole 2,4 ml de solution jaune et 1 ml de solution rouge et 0,4 ml de solution bleue. Mélanger, ensuite ajouter 6,2 ml d'acide chlorhydrique à 10 g/l.</p> <p>✓ Solution témoin <i>JB</i><sub>7</sub></p> <p>Prélever 2,5 ml de solution JB et ajouter 97,5 ml d'acide chlorhydrique à 10 g/l.</p>
<b>Norme</b>		L'aspect de la solution S est limpide et ne doit pas être plus fortement colorée que la solution témoin <i>JB</i> <sub>7</sub> .

➤ **Détermination du pH de la solution S**

▪ **Mode opératoire**

Le pH de la solution S est mesuré à l'aide d'un pH mètre (modèle *Seven Easy*). L'électrode du pH-mètre est plongée dans un erlenmeyer contenant un volume de la solution S, la valeur du pH est lue directement sur l'afficheur de l'appareil.

◆ **Norme:** le pH doit être compris entre 2,1 à 2,6.

**II.3.2.1.3. Contrôle biochimique des matières premières**

**A. Analyses quantitatives (Dosages)**

**A.1. Dosage de la vitamine D2 par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)**

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est l'une des techniques analytiques les plus utiles pour la séparation, la quantification et l'identification de nombreux composés. Les composants de l'échantillon peuvent être séparés efficacement en faisant passer un liquide sous pression (phase mobile) et le mélange d'échantillons à travers une colonne garnie d'un sorbant. Les solutés qui traversent la colonne interagissent de manière légèrement différente avec le sorbant (phase stationnaire) et en ressortent à des moments différents qui permettent leur séparation grâce à un détecteur adapté (**figure 7**), les molécules peuvent être séparées selon leur nature hydrophile ou hydrophobe, leur masse moléculaire ou leur charge (**Esteki et al., 2019**).



**Figure 7:**Appareil de chromatographie liquide à haute performance (*Alliance*) (**Photo originale, 2022**).

**Remarque :**

Il est important d'effectuer le dosage aussi rapidement que possible, en évitant l'exposition à la lumière actinique et à l'air. Toutes les étapes requises pour la préparation des solutions

destinées au dosage de la vitamine D2 par HPLC, sont récapitulés dans le tableau XI.

**Tableau XI:** Préparation des solutions pour le dosage de la vitamine D2 par HPLC

	<b>Mode opératoire</b>
Préparation de la solution à analyser	Dissoudre sans chauffage 14 mg d'ergocalciférol dans du méthanol R et compléter le volume jusqu'à 25 ml avec le même solvant.
Préparation de la solution témoin	Dissoudre sans chauffage 10,5 mg d'ergocalciférol SCR dans du méthanol R et compléter le volume jusqu'à 50 ml avec le même solvant puis prélever 1 ml de solution et compléter le volume jusqu'à 50 ml avec du méthanol R.
Phase mobile	Méthanol à un débit 1,5ml /min.

L'analyse chromatographique est effectuée sous les conditions opératoires suivantes:

- **Colonne :** (Dimensions : L=0,25 m, Ø =4,6 mm).
- **Phase stationnaire:** gel de silice octadécylsilylé post-greffé pour chromatographie (5µm).
- **Température:** 25°C.
- **Détecteur:** spectrophotomètre à 282 nm.
- **Volume injecté :** 20 µl (de la solution à analyser/la solution témoin).

✓ Expression des résultats

$$\text{Dosage(\%)} = \frac{S_e}{S_t} \times \frac{P_{et}}{P_{es}} \times T$$

Avec :

$S_e$  : Surface de la vitamine D2 dans la solution à analysé.

$S_t$  : Surface de la vitamine D2 dans la solution témoin.

$P_{et}$  : Prise d'essai de la vitamine D2 dans la solution témoin en mg.

$P_{es}$  : Prise d'essai de la vitamine D2 dans la solution a analysé en mg.

$T$  : Titre de la solution témoin.

◆ **Norme :** le résultat du dosage de la vitamine D2 doit être compris entre 97 et 103%.

## A.2. Dosage volumétrique

La méthode de titrage volumétrique comprend la totalité des méthodes dont le dosage consiste à additionner, à l'échantillon à analyser, une solution qui contient un réactif à concentration connue (Sandulescu et al., 2020).

Autrement dit, c'est une méthode basée sur la réactivité chimique de la substance à doser avec une espèce chimique introduite en quantité connue appelée réactif titrant. Le titre de ces solutions est exprimé en normalité et parfois en molarité (Nouiri, 2016).

### A.2.1. Dosage volumétrique du principe actif phosphate bicalcique

#### ▪ Mode opératoire

Dans un bécher, dissoudre 0,4 g de phosphate bicalcique dans 12 ml d'acide chlorhydrique dilué R, en chauffant ce mélange au bain-marie si nécessaire et compléter jusqu'à 200 ml avec de l'eau distillée.

A l'aide d'une pipette graduée, prélever 20 ml de cette solution et la mettre dans un entonnoir, ensuite ajouter : 25 ml d'édétate de sodium 0,02 M, 50 ml d'eau distillée, 5 ml de solution tampon chlorure d'ammonium (pH:10,7) et environ 25 mg de mordant noir 11R.

Titre L'excès d'édétate de sodium par le sulfate de zinc 0,02M

✓ Expression des résultats :

$$\text{Dosage(\%)} = \frac{(V_t - V_e) \times C_t}{P_e}$$

Avec:

$V_t$ : le volume de sulfate de zinc 0.1M versé dans l'échantillon.

$C_t$  : valeur constante (3,44).

$V_e$ : le volume de sulfate de zinc 0,1M versé blanc.

$P_e$ : poids de la prise d'essai rempli de phosphate bicalcique.

◆ **Norme** : le résultat de ce dosage doit être compris entre 98% et 105%.

### A.2.3. Dosage volumétrique de l'excipient acide ascorbique

#### ▪ Mode opératoire

Dans une fiole, faire dissoudre 0,15 g d'acide ascorbique avec un mélange de 10 ml d'acide sulfurique diluée R et 80 ml d'eau distillée. Ensuite ajouter 1ml de solution d'amidon R, enfin titrer par l'iode 0,05 M jusqu'à apparition d'une coloration bleu-violet persistante.

✓ Expression des résultats

$$\text{Dosage(\%)} = \frac{V \times C_t \times T}{P_e} \times 100$$

Avec :

**C<sub>t</sub>**: valeur constante (8,81).

**V**: volume de l'iode 0,05M versé.

**T**: titre de la solution d'amidon.

◆ **Norme** : Le dosage de l'acide ascorbique doit être compris entre 99 % et 100,5%.

### II.3.3. Analyse du produit fini

#### II.3.3.1. Contrôle physico-chimique du produit fini

##### A. Caractère organoleptique

###### ➤ Aspect

L'aspect du produit fini est déterminé par un simple examen visuel, en versant le contenu d'un certain nombre d'ampoules dans un bécher.

◆ **Norme** : Liquide de couleur brune, d'odeur et de goût d'orange.

##### B. Analyses qualitatives

###### ➤ Volume moyen

###### ▪ Mode opératoire

Verser le contenu de 10 ampoules dans une éprouvette graduée et faire la lecture du volume.

◆ **Norme** : Le volume moyen de l'ampoule doit être compris entre 4,75 ml et 5,25 ml.

###### ✓ Mesure du pH

###### ▪ Mode opératoire

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre de modèle *SevenEasy*. L'électrode du pH-mètre est plongée dans un erlenmeyer contenant un volume du produit fini, la valeur du pH est lue directement sur l'afficheur de l'appareil.

◆ **Norme** : Le pH doit être compris entre 3,10 et 3,80.

### II.3.3.2. Contrôle biochimique du produit fini

#### A. Analyses quantitatives

##### A.1. Dosage de la vitamine D2 par HPLC

Le tableau XII montre le protocole élaboré par la **pharmacopée européenne (2017)** pour le dosage de la vitamine D2.

**Remarque:** il est indispensable de travailler à l'abri de la lumière et d'utiliser une verrerie ombrée.

**Tableau XII :** Etapes du dosage de la vitamine D2 dans le produit fini par HPLC

	Mode opératoire
Préparation de la solution à analyser	Mélanger le contenu de 5 ampoules du produit fini FRUBIAL <sup>®</sup> faible et verser 13,3 ml du mélange dans une fiole de 50 ml, ajouter 5 ml de tétrahydrofurane et compléter au volume avec du méthanol grade HPLC, puis agiter pendant 20 min. Filtrer 1ml de la solution en utilisant un filtre seringue de 0,45 µm.
Préparation de la solution témoin	Placer 10,5 mg de vitamine D2 étalon de référence dans une fiole de 100 ml et dissoudre cette quantité avec 50 ml d'une solution de tétrahydrofurane THF puis compléter au volume avec le même solvant, il faut s'assurer de bien agiter la solution obtenue. Ensuite, introduire 1 ml de cette solution dans une fiole de 50ml et ajouter 4 ml de tétrahydrofurane, enfin compléter au volume avec du méthanol grade HPLC et bien agiter.

L'analyse chromatographique a été réalisée sous les conditions opératoires suivantes :

- **Régime isocratique.**
- **Phase mobile :** TFA à 0,1% (acide trifluoroacétique) dans l'acétonitrile grade HPLC, mélanger et filtrer la phase mobile sur un filtre membrane à 0,45µm, ensuite dégazer aux ultrasons pendant 10 min.
- **Colonne:** Atlantis dC18 (150cm x4,6mm ; 5µm).
- **Détection:** A=268nm.
- **Injection:** 20 µl.
- **Débit:** 1ml/min.
- **Température de la colonne:** 30°C.

- **Température de l'échantillon:** 25°C.

✓ Expression des résultats :

$$\text{Teneur en vitamine D2} = \frac{S_e}{S_t} \times \frac{P_{et}}{100} \times \frac{1}{50} \times \frac{50}{V_e} \times \frac{1500}{37,5} \times 5 \times 10 \times \text{pureté}$$

Avec :

**S<sub>e</sub>:** Surface de la vitamine D2 dans la solution à analyser.

**S<sub>t</sub>:** Surface de la vitamine D2 dans la solution témoin.

**P<sub>et</sub>:** Prise d'essai de la vitamine D2, dans la solution témoin (en mg).

**V<sub>e</sub>:** Volume prélevé du produit FRUBIAL® faible, en ml.

**Pureté:** Pureté de la vitamine D2.

- ◆ **Norme :** la teneur en vitamine D2 examinée doit être comprise entre 1350 et 1950 UI/ampoule.

## A.2. Dosages volumétriques

### A.2.1. Dosage volumétrique du calcium

#### ▪ Mode opératoire

Prendre une prise d'essai de 5ml de FRUBIAL® faible, ajoutez 5ml de tampon ammoniacal pH 10, 10 ml de sel disodique dihydraté 0,1M et une pincée de Noir Eriochrome T, rincer les parois à l'eau distillée, puis titrer avec une solution de sulfate de zinc 0,1M jusqu'au virage au rouge-violacé.

✓ Expression des résultats

$$[(10 \times \Theta_1) - (n \times \Theta_2)] \times 4,008 = \text{mg/ampoule}$$

Avec:

**Θ<sub>1</sub>:** Titre de la solution de sel disodique dihydraté 0,1M.

**Θ<sub>2</sub> :** Titre de la solution Sulfate de zinc 0,1M.

**n:** Nombre de ml de sulfate de zinc.

- ◆ **Norme :** Le résultat du dosage de calcium doit être inclus dans un intervalle allant de 14,40 à 17,60 mg/ampoule.

### A.2.2. Dosage volumétrique de la vitamine C

#### ▪ Mode opératoire

Dans un erlenmeyer de 100 ml, introduire 5 ml du produit fini et ajouter 25 ml d'eau distillée, puis laisser sous agitation pendant 2 minutes.

Une fois agité, ajouter 5ml d'iode 0,05 M et agiter encore une fois pendant 5 minutes, ensuite laisser reposer pendant 2 minutes. Enfin, titrer par la solution de thiosulfate de sodium 0,1M en présence de 1 ml de solution d'amidon jusqu'à coloration jaune miel persistante.

Effectuer un titrage à blanc.

#### ✓ Expression des résultats

$$T(\text{en mg/ampoule}) = (V_b - V_{\text{essai}}) \times F \times 8,806$$

Avec:

$V_b$ : Volume blanc en ml.

$V_{\text{essai}}$ : Volume utilisé pour le titrage du produit fini en ml.

$F$ : Facteur de correction de la normalité du titrant ( $F= 1$ ).

◆ **Norme** : Le résultat du dosage de l'acide ascorbique doit être compris entre 8 et 13 mg/ampoule.

### II.3.3.2. Contrôle microbiologique du produit fini FRUBIAL® faible

Le contrôle microbiologique de médicament FRUBIAL® faible a pour but de contrôler la stérilité microbienne de ces ampoules buvables. Le test de stérilité est une méthode établie pour détecter la présence de formes viables de micro-organismes dans ou sur des produits pharmaceutiques finis. Dans ce sens, la stérilité signifie qu'un produit est exempt de micro-organismes viables.

Le test de stérilité consiste à examiner un produit pharmaceutique en contact avec un milieu de culture, pour détecter la croissance d'éventuels contaminants microbiens par la recherche des levures et moisissures et la recherche des bactéries aérobies et anaérobies. Ce test est obligatoire pour tous les produits remplis aseptiquement (**Sandle, 2015**).

Le protocole d'analyse microbiologique est effectué selon la méthode mentionnée dans la **pharmacopée européenne (2017)** et le **manuel microbiologique MERCK (2020)**.

#### II.3.3.2.1. Précautions et étapes de préparation de l'échantillon à analyser

Afin de préparer l'échantillon à analyser, il est indispensable de suivre les étapes suivantes :

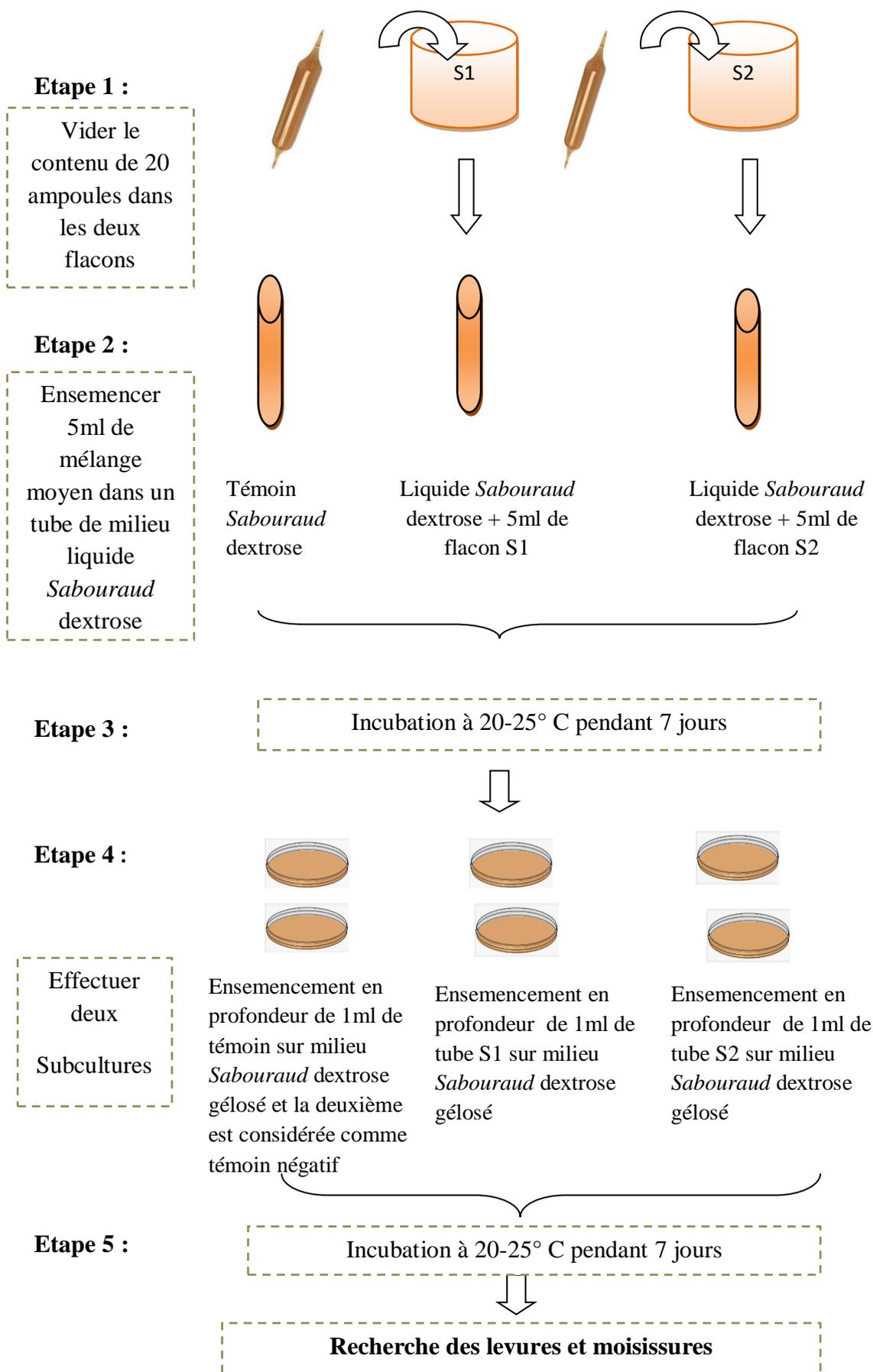
- ✓ Désinfecter la paillasse avant manipulation.
- ✓ A partir des échantillons prélevés selon le plan d'échantillonnage, prendre 20 ampoules à partir du lot N°172.
- ✓ Désinfecter les surfaces avec de l'éthanol 70%.
- ✓ Casser les ampoules aseptiquement et transférer leurs contenus dans un flacon stérile sous une hotte à flux laminaire.
- ✓ Bien mélanger afin d'obtenir une solution homogène.

#### ❖ Lecture des résultats

La présence d'une éventuelle contamination microbienne se manifeste par l'apparition, après incubation pendant une période bien précise, des troubles qui apparaissent dans le milieu de culture en comparaison avec le témoin négatif.

#### II.3.3.2.2. Recherche des levures et moisissures

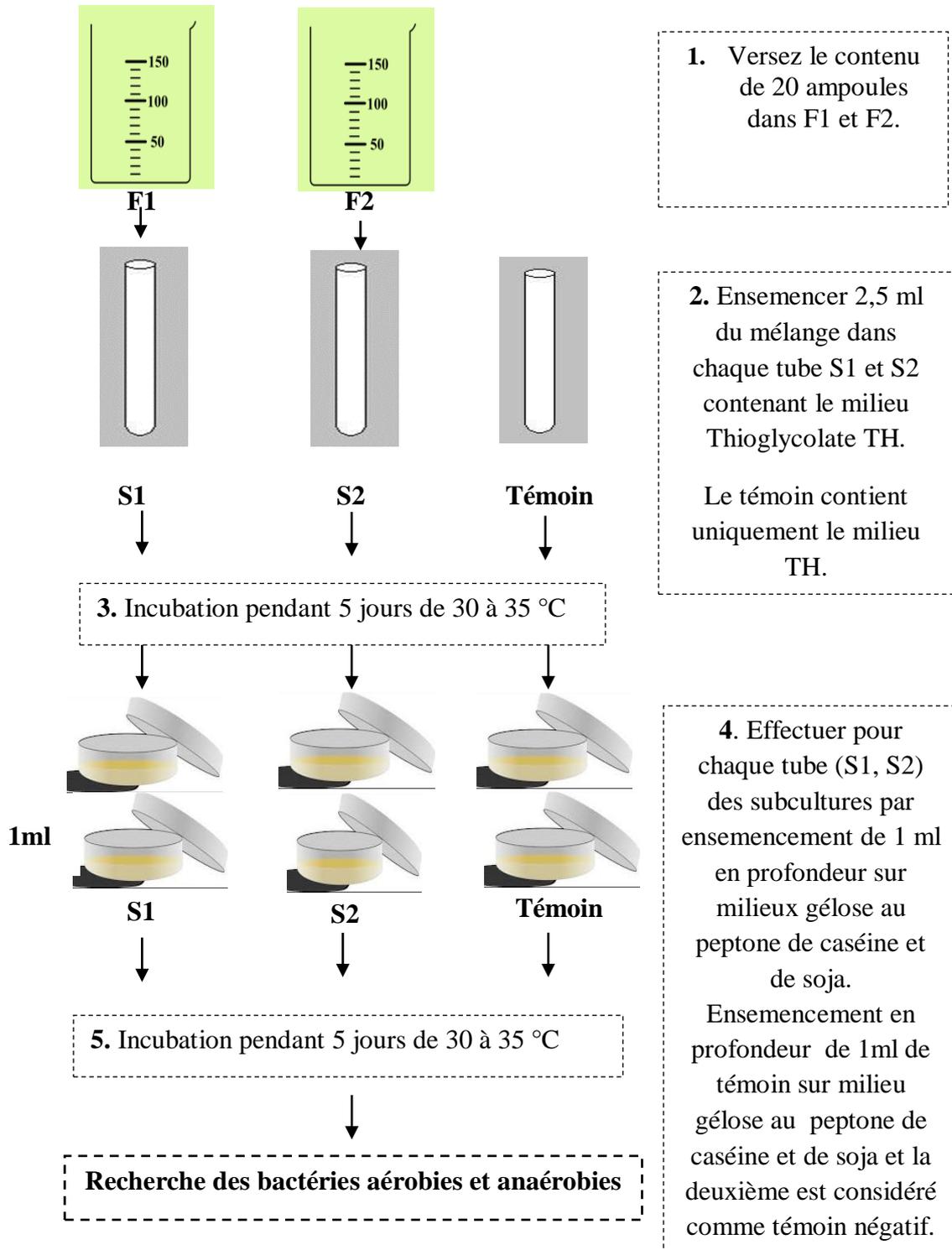
La méthode de recherche des levures et des moisissures dans le produit fini (médicament FRUBIAL® faible) est détaillée dans le schéma ci-dessous (**figure 8**).



**Figure 8 :** Schéma représentant la méthode de recherche des levures et des moisissures dans le produit fini (FRUBIAL® faible).

## II.3.3.2.3. Recherche des bactéries totales

Les différentes étapes de la recherche des bactéries aérobies et anaérobies sont détaillées dans le schéma ci dessous (**figure 9**).



**Figure 9** : Schéma représentant la méthode de recherche des bactéries aérobies et anaérobies dans le produit fini (**FRUBIAL® faible**).

### II.3.3.3. Contrôle toxicologique du produit fini FRUBIAL<sup>®</sup> faible

L'étude de la toxicité d'une substance est l'ensemble des tests pharmacologiques qui déterminent le degré ou le caractère nuisible de la substance afin de réguler son usage. L'action d'une substance toxique est évaluée à partir de plusieurs paramètres, notamment : son mode d'administration (orale, intraveineuse, intrapéritonéale...), la dose administrée, le taux de mortalité observé, l'évolution pondérale, l'histologie de certains organes, la modification de certains paramètres biochimiques du sang appelés marqueurs de toxicité tels que les transaminases (ALAT, ASAT), la bilirubine, la créatinine et l'urée (Etame et al., 2017).

Le test d'innocuité a pour but de relever par méthode biologique la présence d'une ou de plusieurs anomalies de nature variée du produit pharmaceutique.

L'essai consiste à administrer par voie orale, à des souris, une dose relativement élevée du produit par rapport à la dose thérapeutique afin de déceler une éventuelle toxicité due aux substances surajoutées accidentellement pendant la fabrication.

Le protocole d'analyse toxicologique est effectué selon la méthode mentionnée dans la pharmacopée européenne (2017) et le dossier pharmaceutique SAIDAL (2016).

- **Mode opératoire:**

- A. Préparation de l'échantillon :**

- Verser le contenu de 2 ampoules de 5 ml de FRUBIAL<sup>®</sup> faible dans un bêcher en verre.

- B. Préparation des animaux et administration du produit à tester**

- Trier un lot de 5 souris blanches de race *Albinos* et de sexe mâle, ayant un poids de  $20 \pm 2$ g. Elles ont été mises à jeun la veille du contrôle.

- Chaque souris a reçu par gavage à l'aide d'une sonde gastrique (seringue de 2 ml à usage unique munie d'une canule courbée) une dose unique égale à 25mg/kg soit 0,5ml/souris (**figure 10**).

- Ces animaux ont été soumis aux conditions opératoires suivantes :

- Température : 20 à 24°C.
- Humidité : 50 à 60 %.

**C. Observation :**

Les souris sont gardées en observation pendant 48 heures dans les conditions normales (nourriture a volonté, température et humidité optimales citées précédemment), afin de détecter d'éventuels effets toxiques ou mortels dûs à la dose unique administrée.

L'intoxication aiguë provoque des symptômes caractéristiques d'une atteinte du système nerveux central et la mort est généralement due à un arrêt respiratoire.



**Figure 10** : Administration par gavage du produit fini FRUBIAL<sup>®</sup> faible  
(Photo originale, 2022).

# RÉSULTATS ET DISCUSSION

### III.1. Résultats de l'analyse des matières premières

#### III.1.1. Résultats du contrôle physico-chimique

##### III.1.1.1. Caractérisation organoleptique

Les résultats de la caractérisation organoleptique des matières premières sont représentés dans le tableau XIII.

**Tableau XIII** : Résultats de l'analyse des paramètres organoleptiques des matières premières utilisées

Matières premières		Aspect	Solubilité	Conformité
Principe actifs	<b>Phosphate bicalcique</b>	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche.	Pratiquement insoluble dans l'eau distillée et dans l'éthanol à 96% et soluble dans l'acide chlorhydrique dilué et l'acide nitrique dilué.	<b>Conforme à la norme de la Pharmacopée Européenne (2017)</b>
	<b>Vitamine D2</b>	Poudre cristalline blanche ou faiblement jaunâtre.	Pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol à 96% et dans le méthanol.	
Excipient	<b>Acide ascorbique</b>	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche, se colore par exposition à l'air et à l'humidité (elle s'oxyde et vire au jaune safran).	Facilement soluble dans l'eau, assez soluble dans l'éthanol à 96%.	

Les résultats obtenus concernant l'aspect et solubilité des matières premières (substances actives + excipient) sont parfaitement conformes aux normes décrites par **la pharmacopée européenne (2017)**.

Cela prouve que toutes les matières premières analysées présentent des caractères organoleptiques (aspect et solubilité) satisfaisants aux limites du contrôle. Le respect des dates de validité des produits chimiques et des bonnes conditions de stockage, jouent également un rôle très important dans le maintien des caractères organoleptiques des matières premières.

En outre l'appréciation professionnelle d'une matière est appelée analyse sensorielle. Selon **Gilbert (2012)**, cette discipline scientifique constitue un outil de mesure fiable et indépendant pour étudier, de manière extrêmement objective et rigoureuse : la caractérisation, la description, la classification ou l'amélioration des matières dans leurs conditions d'utilisation. C'est un outil puissant utilisé dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire depuis de nombreuses années et qui a compris depuis longtemps l'importance de l'évaluation du profil sensoriel pour le développement et la sélection de produits adaptés.

### III.1.1.2. Résultats des analyses qualitatives des matières premières

#### III.1.1.2.1. Résultats de l'identification du phosphate bicalcique par réaction colorimétrique

L'identification par réactions colorimétrique a montré après chauffage des deux solutions l'apparition de deux précipités (**figure 11**). Les résultats obtenus se sont avérés parfaitement conformes aux normes décrites par **la pharmacopée européenne (2017)**.

Norme : Précipité jaune



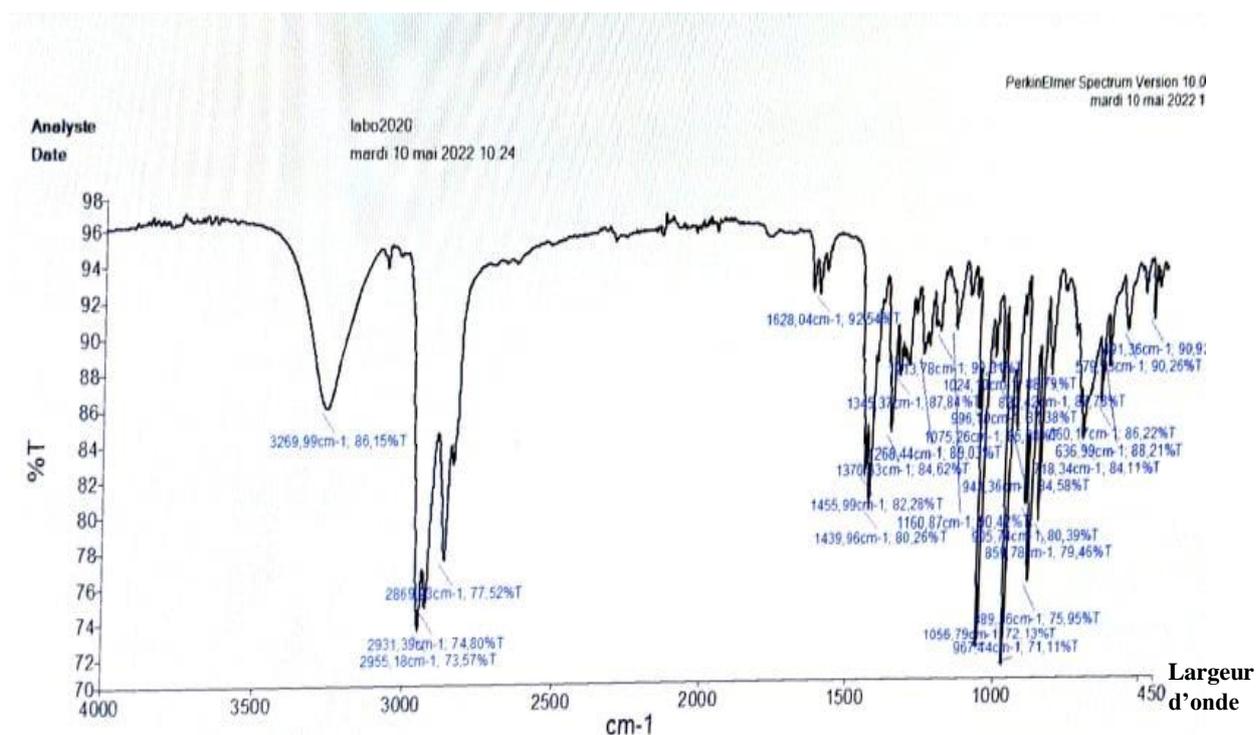
Norme : précipité blanc



**Figure 11** : Résultats de l'identification colorimétrique du phosphate bicalcique (photo originale, 2022).

Selon **Dujourdy et al (2013)**, la mise en œuvre de réactions colorimétriques pour l'identification de molécules est une stratégie analytique simple, peu coûteuse et fiable qui reste très utile pour de nombreuses applications courantes. Malgré leurs limites (présence d'interférence, faible précision, manque de sensibilité et sélectivité) ces outils présomptifs sont encore largement utilisés dans les laboratoires.



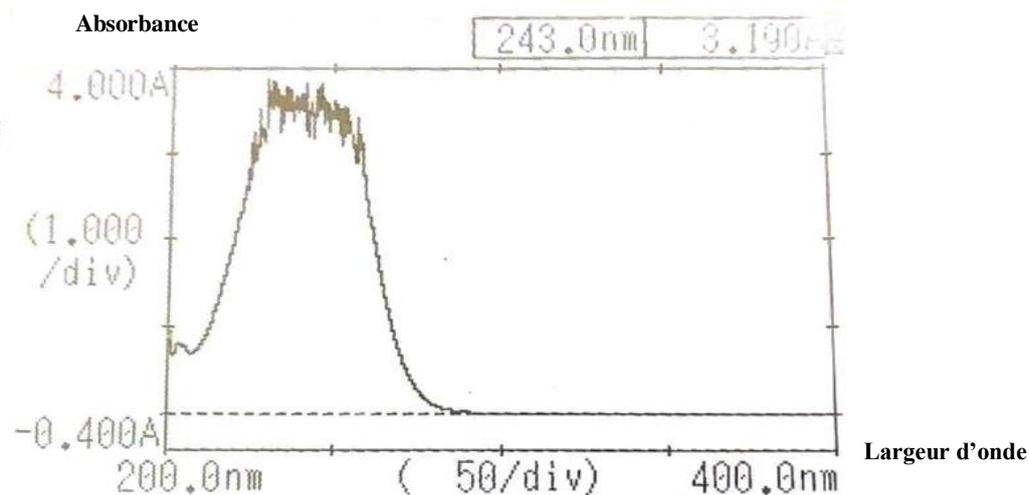


**Figure13:** Spectre d'absorption de la vitamine D2 par spectrophotomètre infrarouge (SCR) (photo originale, 2022).

Le résultat du spectre IR de l'essai réalisé (ergocalciférol testé) en comparaison avec celui de la substance de référence (ergocalciférol SCR), confirme l'identité de cette matière première (la vitamine D2) et répond aux spécifications décrites dans **la PE (2017)**, qui impose que le spectre d'essai doit être semblable au spectre de référence. Les vibrations moléculaires sont à l'origine de l'absorption du rayonnement infrarouge (IR) par la matière, parce que les niveaux d'énergie moléculaire vibrationnelle sont séparés par l'énergie tombant dans la région infrarouge du spectre électromagnétique. Cette spectroscopie très sélective est souvent utilisée pour l'identification des composés, mais elle permet également d'obtenir des informations très importantes sur les interactions intermoléculaires, la conformation moléculaire et l'organisation de la matière (**Servant et al., 2011**). Les résultats obtenus montrent également que le spectre de la vitamine D2 analysée se superpose au spectre standard, indiquant ainsi qu'elle présente une grande pureté conformément aux normes de **la PE (2017)**.

### III.1.1.2.3. Résultats de l'identification de l'acide ascorbique par analyse au spectrophotomètre d'absorption UV/VIS

Le résultat de l'analyse par spectrophotométrie UV/VIS montre que l'acide ascorbique présente une absorption maximale estimée à 243 nm (**figure 14**). Le résultat de ce test est donc conforme à la **PE (2017)** qui impose que le maximum d'absorption de la vitamine C doit être mesuré à 243 nm.



**Figure 14 :** Résultat de l'identification de l'acide ascorbique par spectrophotomètre d'absorption UV/VIS (**photo originale, 2022**).

Selon **Watson (1999)**, l'interaction entre le rayonnement et la matière est un domaine fascinant à part entière. La plupart des molécules médicamenteuses absorbent le rayonnement dans la région ultraviolette du spectre, bien que certaines soient colorées et absorbent donc le rayonnement dans la région visible. Par exemple, les substances bleues absorbent le rayonnement dans la région rouge du spectre. Les sites d'absorption du rayonnement UV/VIS se produisent en excitant des électrons dans la structure moléculaire vers des états d'énergie plus élevés.

### III.1.1.3. Résultats des analyses semi-quantitatives des matières premières

#### III.1.1.3.1. Résultats du pouvoir rotatoire spécifique

##### ❖ Pour la vitamine D2

Le pouvoir rotatoire calculé est  $+106,43^\circ$  (**voir annexe D**). D'après ce résultat, on remarque que ce test est conforme car il se trouve dans la norme décrite par la **PE (2017)**, rappelant que cette norme est incluse dans un intervalle allant de  $+103^\circ$  à  $+107^\circ$ .

##### ❖ Pour l'acide ascorbique

Le pouvoir rotatoire calculé est  $+20,98^\circ$  (**voir annexe D**). D'après ce résultat on remarque que ce test est conforme, car il se trouve dans la norme décrite par la **PE (2017)** qui s'étale de  $+20,5^\circ$  à  $+21,5^\circ$ .

Selon la **PE (2015)**, le pouvoir rotatoire est parfois utile pour l'identification des substances, sa mesure est rarement utilisée comme test de pureté, mais évalue plutôt la pureté globale d'une substance optiquement active (liquide ou solide en solution) en calculant le "**Pouvoir rotatoire spécifique**".

#### III.1.1.3.2. Résultats des analyses semi-quantitatives pour le principe actif phosphate bicalcique

##### III.1.1.3.2.1. Résultats de la recherche des impuretés inorganiques

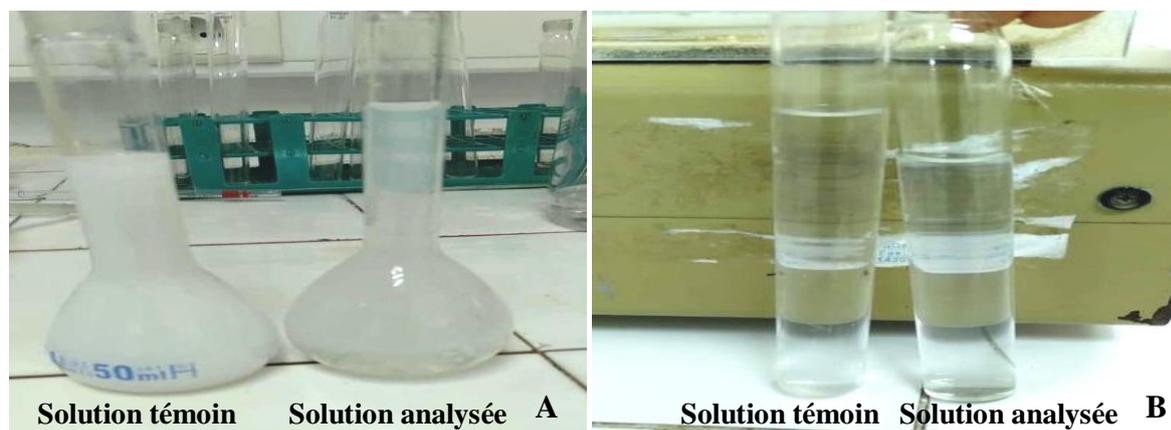
###### A. Recherche des carbonates et du baryum

Le résultat du test de recherche des carbonates dans le phosphate bicalcique a montré qu'il n'y a pas de manifestation d'un effet effervescent (**voir annexe D**). Ce résultat est conforme à la norme décrite par la **PE (2017)**.

Le résultat du test de recherche du baryum a montré que la solution ne présente pas de trouble (**voir annexe D**). Ce résultat est conforme à la norme décrite par la **PE (2017)**.

Le test des chlorures a montré, après 5 min à l'abri de la lumière, que la solution témoin avait présenté une opalescence, alors que la solution analysée avait manifesté une opalescence moins intense que celle du témoin (**figure 15A**). Ces résultats nous confirment que le taux de Chlorures dans phosphate bicalcique est inférieure ou égale 0,25 % selon la norme de la **PE (2017)**. Rappelant que la norme exige qu'après 5 min à l'abri de la lumière, si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci ne doit pas être plus prononcée que celle du témoin (au maximum 0,25 %).

Concernent la recherche des sulfates, après 10 min, la solution témoin a présenté une opalescence, alors que la solution analysée a exprimé une opalescence moins prononcée que celle du témoin (**figure 15B**). Donc le test est acceptable et conforme avec la norme de **la pharmacopée européenne (2017)**, rappelant que cette norme impose qu'après 10 min, si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci ne doit pas être plus prononcée que celle du témoin (au maximum 0,5 %).



**Figure 15** : Résultats de recherche des chlorures et des sulfates (**photo originale, 2022**)

**A** : recherche des chlorures, **B** : recherche des sulfates.

Selon **Seynabou (2020)**, Ces impuretés présentent souvent des effets pharmacologiques et toxicologiques indésirables, qui peuvent être contraires aux effets bénéfiques attendus de l'administration des médicaments. Par conséquent, la surveillance et le contrôle des impuretés contribuent à garantir la qualité et la sécurité des produits pharmaceutiques.

La détermination des impuretés dans les substances actives, les excipients, les articles de conditionnement et les médicaments à différents stades de leur fabrication est raisonnable et nécessaire car fait partie intégrante de la détermination des paramètres qui peuvent définir la qualité d'un médicament. Les impuretés inorganiques (les métaux) doivent être contrôlées dans les produits pharmaceutiques et leurs matières premières, ainsi que dans certains aliments et compléments alimentaires (**Seynabou, 2020**).

Selon **Seynabou (2020)**, les informations issues de ces tests, par inspection visuelle par rapport aux témoins, sont non spécifiques et uniquement qualitatives. Face à ce manque de spécificité, de sensibilité et de données quantitatives, ces "essais limites-métaux lourds" ont été abandonnés au profit de méthodes analytiques instrumentales. Avec le développement et l'application de la technologie des instruments modernes, il est devenu possible de fournir des

données spécifiques, sensibles et quantitatives sur les niveaux d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques.

La pharmacopée américaine (2017) recommande l'utilisation des techniques instrumentales modernes telles que la spectroscopie d'émission optique, utilisant un plasma à couplage inductif ou spectrométrie de masse utilisant un plasma à couplage inductif pour contrôler les impuretés inorganiques (Seynabou, 2020).

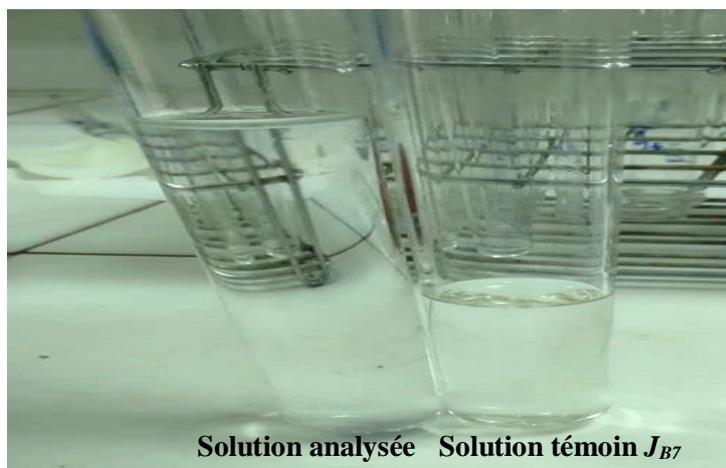
### III.1.1.3.3. Résultats des analyses semi-quantitatives pour l'excipient acide ascorbique

#### A. Caractérisation générale

##### ➤ Aspect de la solution S

Le résultat montre que l'aspect de la solution est limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin  $J_{B7}$  (figure 16). Le test est donc conforme à la norme.

Selon la pharmacopée européenne (2017), un liquide est considéré comme limpide si sa limpidité correspond à celle de l'eau distillée ou si son opalescence n'est pas plus prononcée que la solution témoin.



**Figure 16** : Aspect de la solution S et la solution témoin  $J_{B7}$  (photo originale, 2022).

##### ➤ pH de la solution S

Le résultat du pH de la solution d'acide ascorbique mesuré au pH mètre est égale à 2,5. Ce taux se trouve parfaitement intégré dans l'intervalle décrit par la PE (2017), allant de 2,1 à 2,6. Ainsi on peut admettre que le pH de l'acide ascorbique est conforme.

Selon Braulio (2016), la compréhension du comportement de la vitamine C est difficile, du fait de l'importance de plusieurs paramètres qui influent sur sa dégradation comme la

température, le pH, l'exposition à la lumière et la présence d'oxygène et d'ions métalliques, de ce fait, les tests qui mesurent le pH de la vitamine C sont importants pour le contrôle.

### III.1.2. Résultats du contrôle biochimique des matières premières

#### III.1.2.1. Analyses quantitatives (Dosages)

Après avoir réalisé l'identification des matières premières (phosphate bicalcique, vitamine D2, et l'acide ascorbique), ainsi que leurs essais limites, la dernière étape de contrôle exigé par la pharmacopée européenne pour avoir une connaissance complète d'une substance est : le dosage, qui a pour but de déterminer avec précision sa teneur exacte, exprimée en pourcentage. Les techniques les plus couramment utilisées pour le dosage des substances actives sont : le dosage par HPLC (pour la vitamine D2) et le dosage volumétrique (pour le phosphate bicalcique, et la vitamine C) (Pont, 2011).

##### III.1.2.1.1. Dosage de la vitamine D2 par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Le chromatogramme obtenu permet de calculer le taux de la vitamine D2. Les figures 17 et 18 représentent les profils chromatographiques du contrôle de l'ergocalciférol.

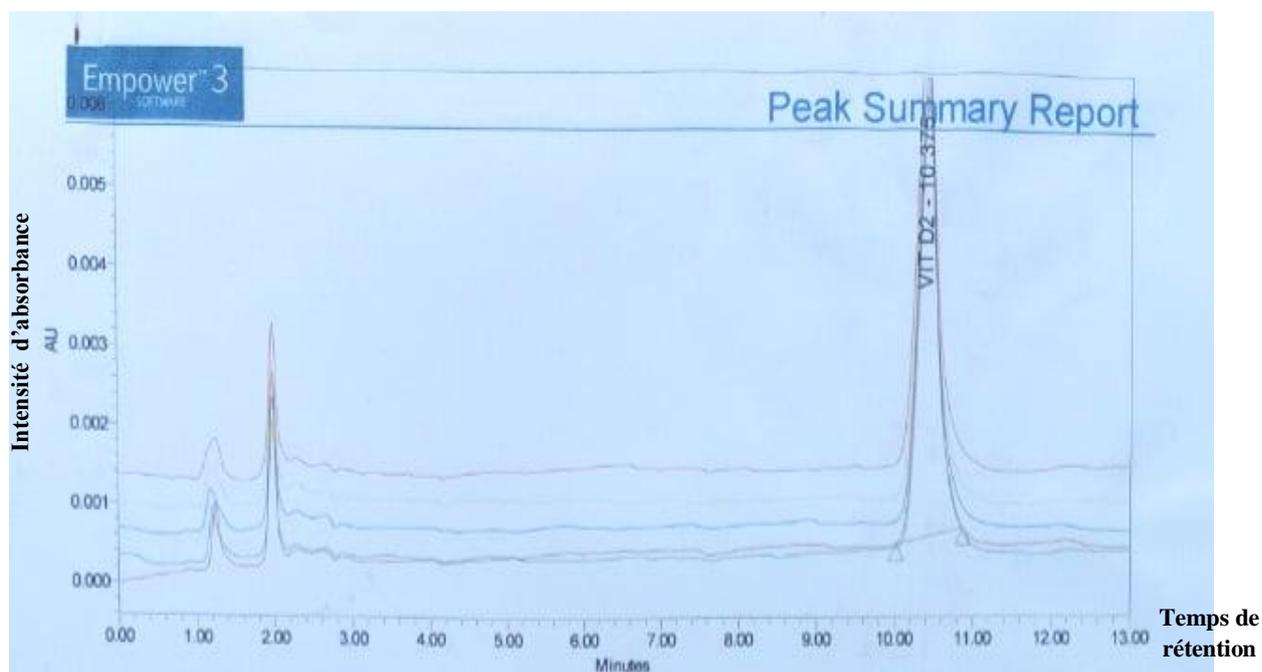
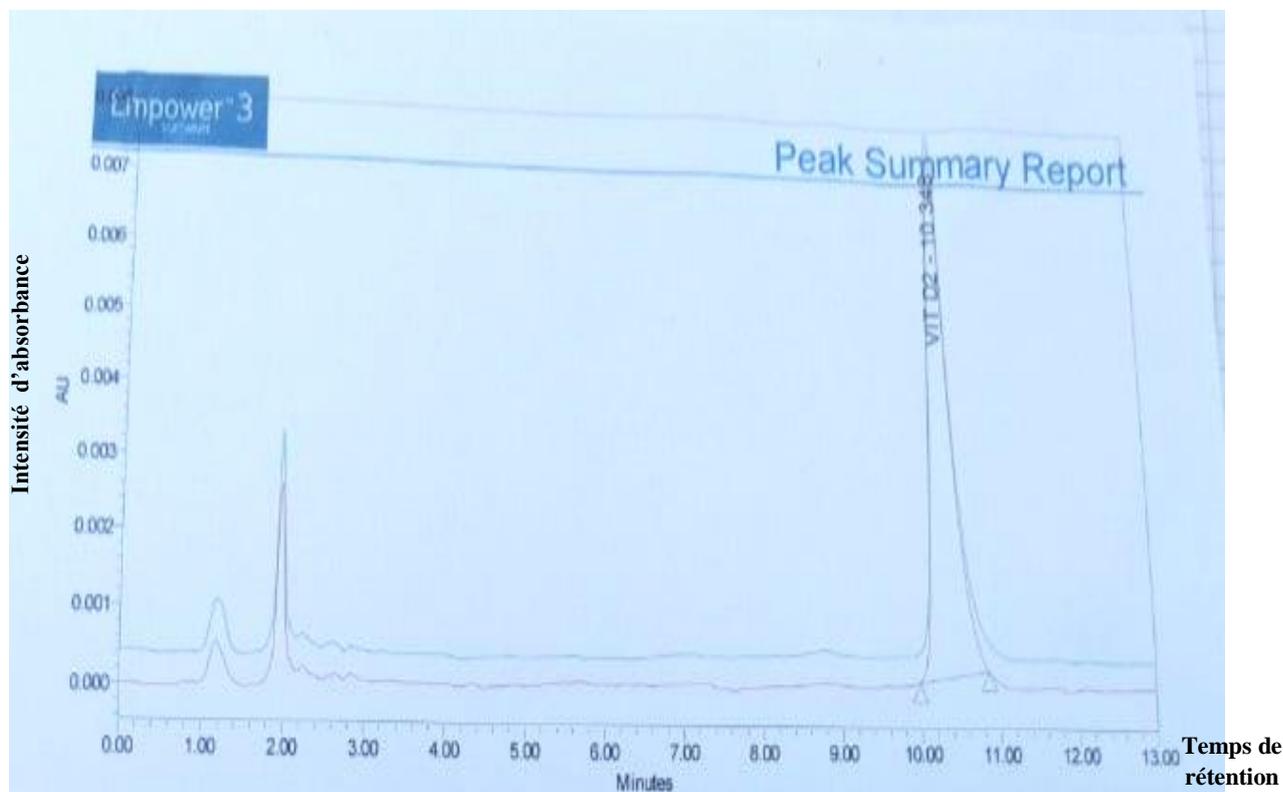


Figure 17 : Chromatogramme obtenu avec le témoin (photo originale, 2022).

Les résultats du chromatogramme obtenu pour la solution témoin de la vitamine D2 sont représentés dans le Tableau XIV.

**Tableau XIV:** Résultats affichés par le chromatogramme obtenu avec la solution témoin

Nombre d'injection	Temps de rétention (min)	Surface du pic
1	10,375	97564
2	10,388	95952
3	10,353	96067
4	10,358	96164
5	10,372	97322
Moyenne	10,369	96614

**Figure 18 :** Chromatogramme obtenu avec l'essai (photo originale, 2022).

Les résultats du chromatogramme obtenu pour la solution à analyser de la vitamine D2 sont représentés dans le tableau XV.

**Tableau XV** : Résultats affichés par le chromatogramme obtenu avec la solution à analyser

Nombre d'injection	Temps de rétention (min)	Surface du pic
1	10,348	132011
2	10,348	131878
Moyenne	10,348	131945

Le résultat obtenu lors du dosage de l'ergocalciférol par HPLC est 100,52 % (**voir annexe D**). Le résultat de ce paramètre est conforme avec la norme de **la pharmacopée européenne (2017)**, car il s'intègre parfaitement dans l'intervalle [97-103%].

Selon **Terbouche (2012)**, dans l'industrie pharmaceutique moderne, l'HPLC est un outil principal qui fait partie intégrante des différentes phases du cycle de vie d'un médicament chimique ou biologique (découverte, développement et commercialisation). L'HPLC occupe une place inégalée dans le contrôle de la qualité pharmaceutique grâce aux nombreux avantages qu'elle offre : elle permet l'identification et la quantification des principes actifs et des impuretés : identification des différents excipients, des agents stabilisants et des agents conservateurs d'un médicament ainsi, La haute sélectivité de la méthode permet la détermination des impuretés, des isomères et des produits de dégradation des médicaments. D'autres avantages peuvent lui être associés, à savoir :

- Efficacité, sélectivité et champ d'application étendu.
- Haute résolution, séparation rapide.
- Ne nécessite une petite quantité d'échantillon.
- Mesure quantitative précise.

#### III.1.2.1.2. Dosages volumétriques

Les résultats des dosages volumétriques réalisés pour le phosphate bicalcique et l'acide ascorbique sont récapitulés dans le tableau XVI.

**Tableau XVI** : Résultats du dosage volumétrique de phosphate bicalcique et de l'acide ascorbique

	Résultats du dosage volumétrique	Norme Pharmacopée européenne (2017)	Conformité
<b>phosphate bicalcique</b>	100,89% (voir annexe D)	[98,0%-105,0%]	<b>Conforme à la norme de la PE (2017)</b>
<b>Acide ascorbique</b>	100,11% (voir annexe D)	[99,0% -100,5%]	

Les résultats obtenus après le titrage des MP (phosphate bicalcique et acide ascorbique) avec le sulfate de zinc à 0,1M et l'iode 0,05M, montre le virage de la couleur des deux solutions au bleu et bleu violet respectivement (**annexe D**), permettent la détermination de point d'équivalence, qui correspond au volume nécessaire de ces réactifs pour atteindre l'équilibre. Les résultats obtenus (**tableau XVI**) sont conformes car ils sont inclus dans l'intervalle décrit par la **PE (2017)**.

Toutes les analyses effectuées pour confirmer la pureté des MP ont été établies selon la **PE (2017)**. Ces méthodes d'analyse permettent le contrôle, grâce à des monographies qui présentent toutes les spécifications, afin de définir les caractéristiques qualitatives, semi-qualitatives et quantitatives de ces matières premières pour garantir une qualité optimale du médicament en question.

### **III.2. Résultats de l'analyse du produit fini**

#### **III.2.1. Résultats du contrôle physico-chimique du produit fini**

##### **III.2.1.1. Caractères organoleptiques**

Les observations faites à l'œil nu sur l'aspect d'une prise d'essai du produit fini (**figure 20**), prélevée à partir du lot N°172, montrent qu'elle présente une uniformité d'aspect (liquide de couleur brune, d'odeur et de goût d'orange). De ce fait on peut conclure que ce résultat est conforme à la norme exigée par la **PE (2017)**.



**Figure 19** : Aspect du produit fini FRUBIAL® faible (**Photo originale, 2022**).

La préférence des consommateurs pour un produit particulier est généralement étroitement liée aux caractéristiques sensorielles particulières du produit (aspect, odeur, apparence, texture, etc.). Il est donc nécessaire de mettre en place un processus d'évaluation sensorielle dans l'entreprise pour obtenir un outil puissant d'aide au développement de produits innovants et de qualité (Gilbert, 2012).

Selon Prevost (2016), les ampoules buvables sont des doses unitaires liquides qui contiennent une solution pour administration orale. Cette forme galénique offre une meilleure conservation surtout pour les solutions sensibles aux conditions environnantes. Typiquement, ces solutions sont distribuées par remplissage sous vide. Le verre borosilicaté est le meilleur matériau d'emballage utilisé pour la fabrication des ampoules buvables, en raison de ses propriétés physico-chimiques supérieures : dureté, stabilité, inertie chimique et facilité de nettoyage.

Afin de faciliter l'ouverture de l'ampoule et d'assurer la sécurité de l'utilisateur, les industriels ont optés pour une "ampoule deux pointes autocassable".

### III.2.1.2. Résultats des analyses qualitatives

#### III.2.1.2.1. Volume moyen

Le volume moyen de 10 ampoules prélevées aléatoirement à partir du lot N°172 est 4,9 ml/ampoule. Le résultat de volume moyen calculé se trouve dans la fourchette de la norme indiquée par la pharmacopée européenne (2017), comprise entre 4,75 et 5,25 ml, donc le test est conforme et acceptable.

### III.2.1.2.2. Mesure du pH

Le pH de la solution buvable du médicament FRUBIAL® faible prélevée à partir du lot N°172 est estimé à 3,50 (**voir annexe D**). Le résultat du pH obtenu se trouve dans les normes indiquées par la **PE (2017)** allant de 3,10 à 3,80.

### III.2.2. Contrôle biochimique de produit fini

#### III.2.2.1. Analyses quantitatives (dosages)

Selon **Ounas (2016)**, le but du dosage est de contrôler la teneur en substances dans un produit ou une préparation. Les principales techniques analytiques utilisées sont: le titrage volumétrique et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

#### III.2.2.1.1. Résultats du dosage par titrage volumétrique

##### A. Dosage du calcium

Les résultats obtenus après le titrage du principe actif contenu dans le produit fini avec le sulfate de zinc 0,1M, jusqu'au virage au rouge violacé, a permis de déterminer le point d'équivalence qui correspond au volume du sulfate de zinc nécessaire pour atteindre l'équilibre.

Le taux de calcium calculé est de 15,23 mg/ampoule (**voir annexe D**). Le résultat obtenu pour le principe actif dans le produit fini est conforme, car il se trouve presque à la limite inférieure de la norme de la **PE (2017)**, allant de 14,40 à 17,60 mg/ampoule.

##### B. Dosage de l'acide ascorbique

Les résultats obtenus après le titrage de l'acide ascorbique contenu dans le produit fini avec le thiosulfate de sodium 0.1M, en présence de solution d'amidon, jusqu'à l'apparition de couleur jaune miel, nous a permis de faire le calcul du taux de la vitamine C.

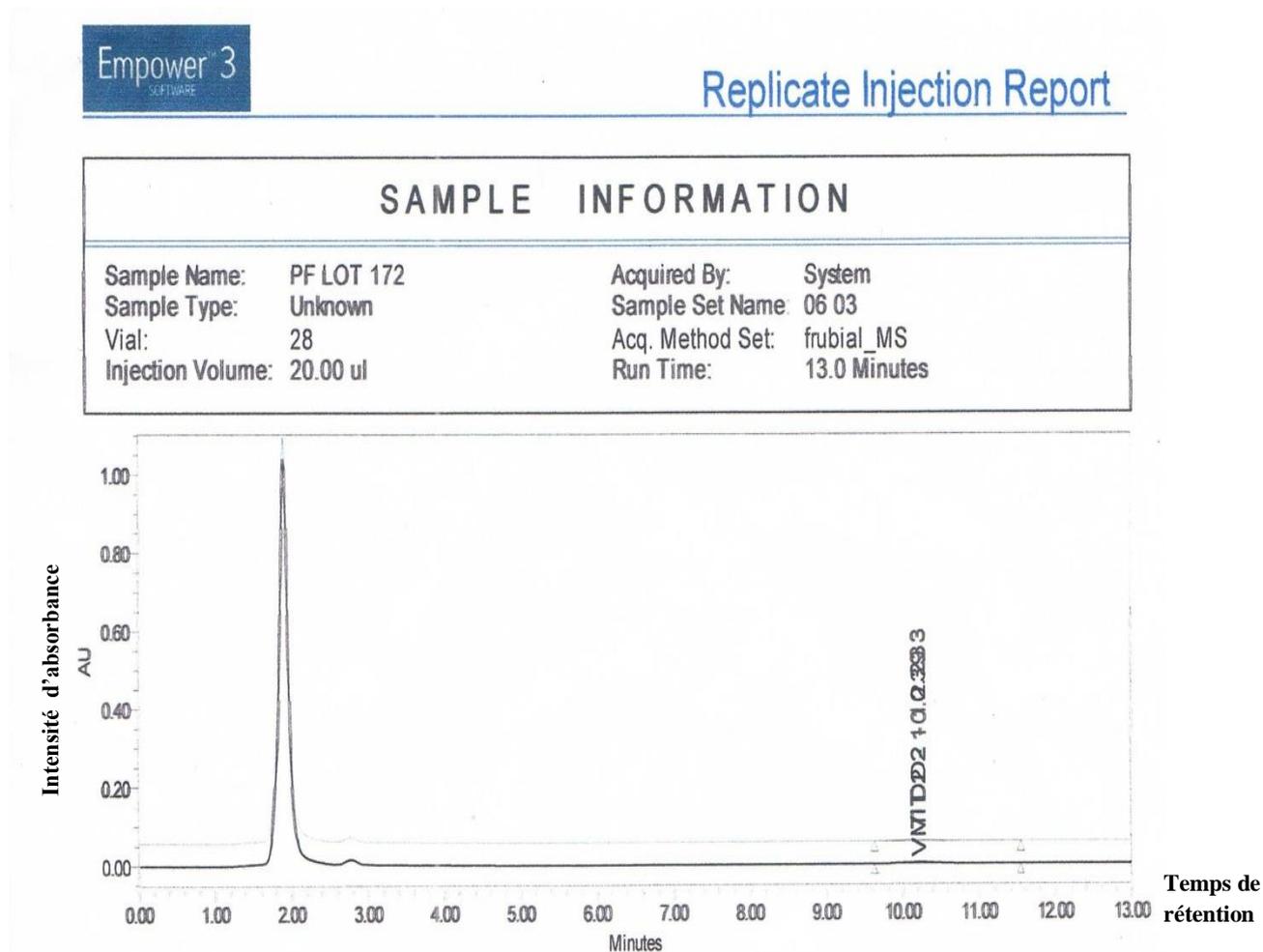
Le taux d'acide ascorbique calculé est 11,44 mg/ampoule (**voir annexe D**). Le résultat obtenu pour cet excipient dans le mélange est conforme, car il s'intègre parfaitement dans l'intervalle de la norme allant de 8 à 13 mg/ampoule.

#### III.2.2.1.2. Résultat du dosage par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

##### A. Dosage de la vitamine D2

Le contrôle de la teneur en vitamine D2 dans le produit fini FRUBIAL® faible a été réalisé par HPLC à partir d'une prise d'essai prélevée du lot N° 172. Les **figures 22 et 23**

représentent respectivement les profils chromatographiques de la solution analysée et la solution témoin .

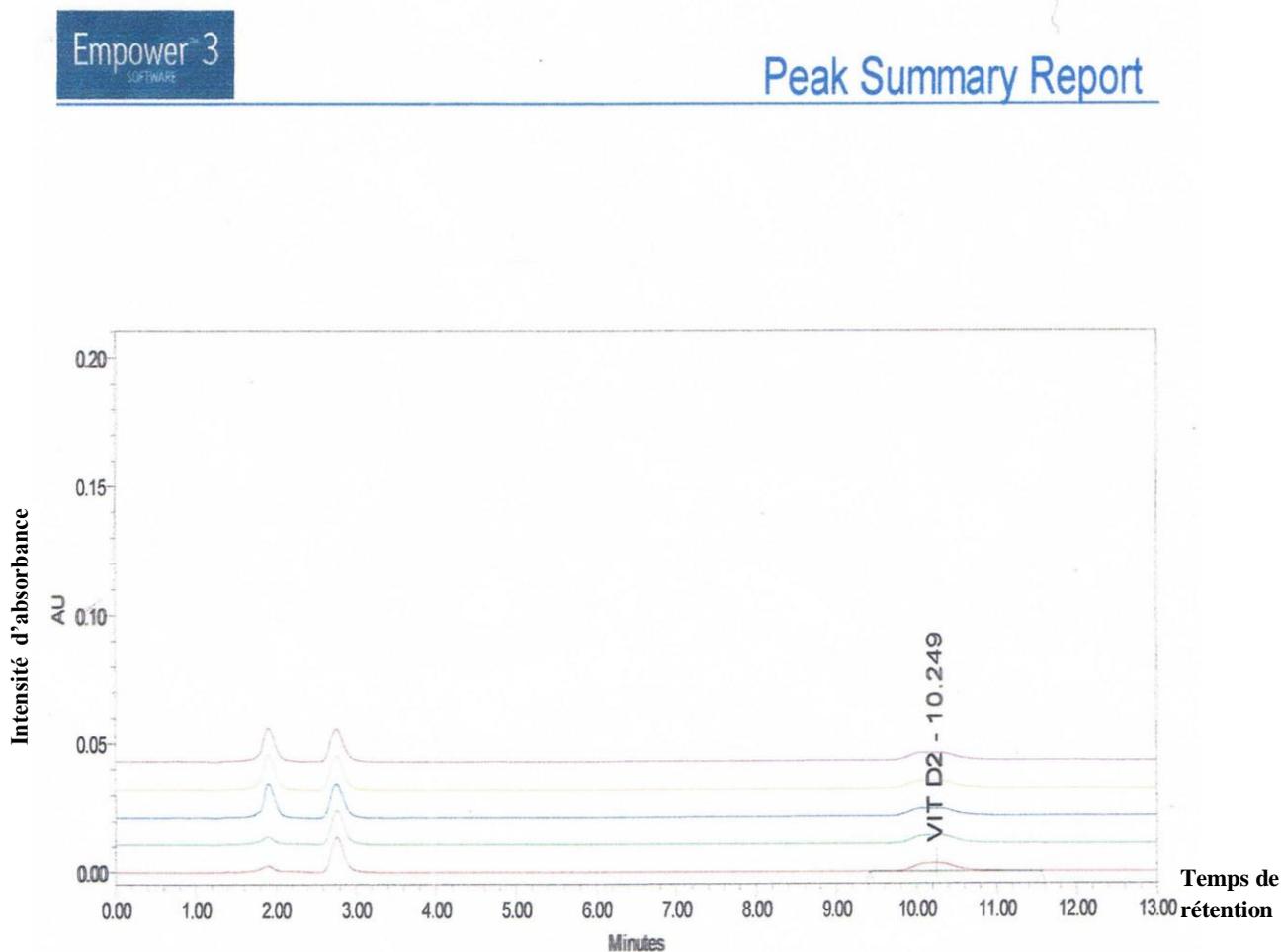


**Figure 20 :** Chromatogramme obtenu avec l'essai du lot N<sup>0</sup>172 (photo originale, 2022).

Le résultat du chromatogramme obtenu pour la solution à analyser de la vitamine D2 contenu dans le produit fini est représenté dans le Tableau XVII.

**Tableau XVII:** Résultats affichés par le chromatogramme obtenu avec la solution à analyser

Nombre d'injection	Temps de rétention (min)	Surface du pic
1	10,239	96128
2	10,233	95982
Moyenne	10,236	96055



**Figure 21** : Chromatogramme obtenu avec la solution témoin (**photo originale, 2022**).

Les résultats du chromatogramme obtenu pour la solution témoin de la vitamine D2 contenu dans le produit fini sont représentés dans le Tableau XVIII.

**Tableau XVIII** : Résultats obtenus à partir du chromatogramme de la solution témoin

Nombre d'injection	Temps de rétention (min)	Surface du pic
1	10,249	117114
2	10,266	117166
3	10,092	119695
4	10,087	118693
5	10,088	117573
Moyenne	10,156	118048,4

La teneur en vitamine D2 analysée dans le produit fini est estimée à 1718,94 UI/ ampoule (**voir annexe D**).

Le résultat obtenu pour la vitamine D2 dans le mélange est conforme, car le taux calculé se trouve dans l'intervalle de la norme décrite par la **PE (2017)** allant de 1350 à 1950 UI/ampoule.

Selon **Terrai et al (2019)**, le «temps de rétention" (le temps qu'il faut pour qu'un composé s'élué de la colonne et soit détecté) caractérise qualitativement une substance dans des conditions chromatographiques données. L'amplitude de ces pics, et même l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base, permettent de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

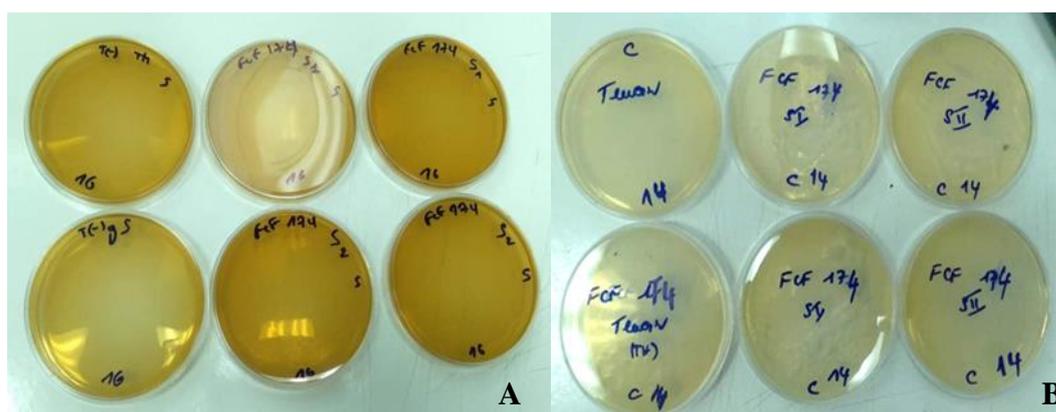
Le test de dosage des matières premières dans le produit fini FRUBIAL® faible garantit que la quantité moyenne de ces matières dosées sur ce médicament se trouve dans les limites des concentrations décrites par la **PE (2017)**, afin d'obtenir l'effet thérapeutique souhaité.

### III.2.3. Résultats du contrôle microbiologique du produit fini FRUBIAL® faible

Les résultats présentés dans le **tableau XIX** et la **figure 22** ont été obtenus après une période d'incubation de 7 jours pour les levures et les moisissures, et 5 jours pour les bactéries aérobies et anaérobies, à la suite d'un contrôle microbiologique du produit fini FRUBIAL® faible effectué selon la méthodologie recommandée par la **Pharmacopée européenne (2017)**.

**Tableau XIX** : Résultats du contrôle microbiologique du produit fini FRUBIAL® faible

Test de stérilité	Normes PE (2017)	Conformité
Recherche de bactéries totales (aérobies et anaérobies)	Absence totale des germes	Conformes aux spécifications décrites par la <b>PE (2017)</b>
Recherche des moisissures est des levures totaux	Absence totale des germes	



**Figure 22** : Résultats du contrôle microbiologique pratiqué sur le produit fini **A** : Absence de bactéries (aérobies et anaérobies), **B** : Absence des moisissures est des levures (**Photos originales, 2022**).

Les tests standards de stérilité bactérienne et fongique sont recommandés dans les pharmacopées de différents pays. Cependant, ces tests s'appliquent aux substances, préparations et les produits obligatoirement stériles (**Le hir et al., 2009**) . La **Pharmacopée européenne (2017)** exige l'absence totale de germes (bactéries aérobies et anaérobies, levures, moisissures) visuellement discernables dans la majorité des produits pharmaceutiques finis après une période d'incubation spécifique (7j pour les champignons et les moisissures/ 5j pour les bactéries).

Les résultats du test de stérilité du produit fini FRUBIAL® faible sont dépourvus de toute croissance microbienne, ce qui indique qu'ils sont conformes aux normes recommandées par **la PE (2017)**, et cela est dû aux bonnes pratiques de fabrication du médicament et au respect des conditions d'hygiène tout au long de ses différentes phases de production.

La contamination peut entraîner des défauts de qualité du produit fini, le médicament doit donc répondre aux exigences fondamentales du dossier d'AMM, à savoir : qualité, sécurité et efficacité. Tout au long de son cycle de vie, le médicament est exposé à de multiples sources de contamination. Selon **Tréhel (2015)**, il est important de mettre en place un système de gestion des risques conforme aux bonnes pratiques de fabrication afin de mettre sur le marché des produits répondant aux exigences réglementaires.

La contamination microbienne de médicament FRUBIAL® faible peut être induite par des organismes vivants qui se multiplient dans leurs conditions favorables à savoir : la température, l'humidité...etc, tout au long de sa chaîne de production. D'après SAIDAL, tous les lots contaminés doivent être incinérés et pris en charge par l'entreprise de chaudronnerie et de ferblanterie d'Alger (ECFERAL) agréée par le ministère de l'environnement. L'équipe collecte et transporte les médicaments contaminés vers une zone spécialisée pour l'incinération des produits pharmaceutiques.

Cependant, la contamination est l'un des ennemis majeurs de l'activité pharmaceutique industrielle, un médicament est quasi constamment soumis au risque de contamination dont celle de type microbiologique lors de sa fabrication et son conditionnement. Le produit fini peut contenir une microflore introduite à partir d'une ou plusieurs sources, telles que les matières premières, l'équipement de traitement, l'environnement, l'eau utilisée pour la fabrication et le personnel de fabrication. L'instabilité microbienne des médicaments est un paramètre crucial dans l'évaluation de leur qualité et leur performance. Une telle instabilité peut conduire à une altération des propriétés physicochimiques du produit, qui à leur tour, peuvent affecter la durée de sa conservation ou peuvent dans certains cas, mettre la vie en danger (**Dao et al., 2017**).

### III.2.4. Résultats du contrôle toxicologique du produit fini FRUBIAL<sup>®</sup> faible

Après une durée d'observation de 48h ayant suivi le gavage par voie orale, les résultats du contrôle toxicologique du produit fini FRUBIAL<sup>®</sup> faible, sont présentés dans le **tableau XX** et la **figure 23**.

**Tableau XX** : Résultats du contrôle toxicologique du produit fini FRUBIAL<sup>®</sup> faible

Test	Nombre de souris testées	Résultats	Norme PE (2017)	Conformité
Test d'innocuité (toxicité par voie orale)	5 souris mâles ( <i>Race Albinos</i> )	Absence de mortalité constatée	Aucune mortalité	Conformes aux spécifications décrites par la PE (2017)



**Figure 23**: Absence de mortalités dans le lot testé par le produit fini FRUBIAL<sup>®</sup> faible après 48h du gavage (**photo originale, 2022**).

Le test de toxicité effectué pour le médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible confirme qu'il ne présente aucune mortalité chez les animaux, après une période d'observation de 48 heures, ces résultats se sont avérés conformes avec les normes exigées par la PE (2017).

Tous les résultats du contrôle physicochimique, microbiologique et toxicologique que nous avons réalisé corroborent avec ceux rapportés par **Messaoudi et Guennaz (2012)**, ces auteurs avaient réalisé un contrôle physicochimique sur le médicament FRUBIAL<sup>®</sup> faible, à travers lequel elles ont validé la pureté des matières premières et la conformité du produit fini par rapport aux normes de la **pharmacopée européenne (2008)**, elles ont également confirmé l'absence totale des bactéries aérobies et anaérobies ainsi que les levures et les moisissures,

même le test d'innocuité du produit fini qu'elles ont réalisé, a montré la non toxicité du médicament FRUBIAL® faible marquée par l'absence de mortalité chez les souris testées.

Avec le développement de l'industrie pharmaceutique, de nombreuses études notamment sur la toxicité de produits chimiques potentiellement thérapeutiques se sont apparues en vue d'évaluer plus rigoureusement les dangers, les risques et définir la sécurité d'usage des médicaments, non seulement pour préserver la santé humaine, mais aussi pour protéger l'environnement. Cependant, des réglementations ont donc été progressivement édictées pour encadrer la vérification des effets indésirables et secondaires et limiter l'utilisation des produits pharmaceutiques, suivies de règlements relatifs à leur production, leur mise sur le marché et leur usage (De Gerlache et Isnard, 2012).

Par ailleurs, Les progrès de la science et de la technologie ont entraîné un développement important dans le domaine des tests de toxicité. L'amélioration des méthodes conventionnelles par l'application de techniques modernes est la question d'aujourd'hui. Les essais traditionnels de toxicité aiguë, qui implique l'utilisation d'un grand nombre d'animaux sont remplacés par des méthodes alternatives. Ces méthodes requièrent l'utilisation d'un nombre réduit d'animaux ou d'autres modèles qui ne nécessitent pas leur emploi, dont les approches *in silico* et *in vitro*.

Cependant les tests de toxicité aiguë *in vitro* présentent plusieurs avantages. Il s'agit de petites installations qui permettent d'utiliser peu de substance d'essai, de faibles coûts, un nombre élevé de répétitions ainsi qu'une facilité d'interprétation des résultats obtenus, des modèles cellulaires pour pratiquement tous les tissus ou espèces d'animaux de laboratoire sont désormais disponibles. De plus, le modèle *in silico* est très avantageux. Il est moins cher, hautement reproductible, peut être constamment optimisé et a également le potentiel de remplacer l'utilisation d'animaux dans un avenir proche (Erhirhie et al., 2018).

Enfin, l'absence de mortalité ainsi que l'état normal des souris renforce d'une part les résultats microbiologiques précédents, ayant indiqué qu'il n'existe pas de contaminants dans les matières premières, d'autre part, cela permet de vérifier qu'il n'y a pas eu des erreurs de formulation ou d'addition accidentelle d'éléments toxiques lors de la fabrication, ce qui démontre l'innocuité du produit FRUBIAL® faible. Cela confirme également que les conditions de production ont été strictement respectées, permettant ainsi d'obtenir un produit fini satisfaisant et conforme aux normes préconisées par la Pharmacopée Européenne (2017).

**CONCLUSION**

La production des médicaments est confrontée à de nombreuses exigences notamment sur la qualité. Pour cela, l'industrie pharmaceutique doit avoir un système d'assurance de qualité performant qui permet de garantir l'efficacité et la sécurité des produits mis sur le marché.

Notre stage à la filiale Biotic du groupe SAIDAL située au Gué de Constantine, nous a permis de découvrir et de connaître les différentes méthodes appliquées dans le contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique, et toxicologique des médicaments, plus particulièrement, un médicament fortifiant nommé FRUBIAL® faible, tout en suivant les consignes d'analyses préconisées par **la pharmacopée européenne (2017)**.

Les résultats du contrôle physicochimique des matières premières (phosphate bicalcique, vitamine D2, acide ascorbique) nous ont permis de démontrer que :

- ✓ Les tests de caractérisation organoleptique portant sur l'aspect et la solubilité ont approuvé la conformité des matières premières par rapport aux normes de **la pharmacopée européenne (2017)**.
- ✓ Les différents tests d'identification réalisés par les réactions colorimétriques, la spectrophotométrie infrarouge et la spectrophotométrie UV/VIS, ayant pour but de confirmer la pureté des substances testées, étaient conformes aux normes de la **PE (2017)**.
- ✓ Les résultats des essais limites de recherche des imputées (carbonates, chlorure, baryum, sulfate) se sont avérés également conformes aux normes de la **PE (2017)**.

Les résultats physicochimiques, microbiologiques et toxicologiques du produit fini FRUBIAL® faible ont montré que :

- ✓ L'analyse des caractères organoleptiques portant sur l'aspect, le goût et l'odeur ont donné des résultats satisfaisants.
- ✓ Le dosage volumétrique de calcium et de l'acide ascorbique dans le médicament ont donné des résultats satisfaisants et conformes aux normes de la **PE (2017)**.
- ✓ Le dosage de la vitamine D2 par HPLC a donné des résultats très similaires à ceux du témoin et conformes aux normes de la **PE (2017)**.

Par ailleurs, l'analyse microbiologique du produit fini a prouvé l'absence totale des bactéries aérobies et anaérobies après une période d'incubation de 5 jours à 30-35°C) ainsi les levures et les moisissures (après une période d'incubation de 7 jours à 20-25° C) confirmant ainsi que les conditions d'hygiène ont été parfaitement respectées tout au long sa chaîne de production et cela prouve que l'industrie pharmaceutique SAIDAL respecte les exigences fondamentales du dossier d'AMM à savoir: la qualité, la sécurité et l'efficacité.

Le test d'innocuité du produit fini, testé sur les souris de race *Albinos*, n'a donné suite à aucune mortalité, ni manifestations toxicologiques aiguës après 48h du gavage par voie orale,

ces résultats prouvent la non toxicité aiguë du médicament FRUBIAL® faible conformément aux normes toxicologiques.

Tous ces résultats, affirment que les matières premières analysées (phosphate bicalcique, vitamine D2 et acide ascorbique) ainsi que le produit fini FRUBIAL® faible du lot N°172, étaient tous conformes aux normes établies par la **PE (2017)**, permettant ainsi de déduire qu'il est prêt pour la commercialisation et peut être délivré aux patients sans aucun risque. A titre de rappel, chaque lot fabriqué au sein de sites de production SAIDAL, est soumis obligatoirement au contrôle à chaque étape tout au long sa chaîne de fabrication car le médicament est toujours soumis à des paramètres environnementaux qui peuvent influencer sa qualité (stabilité, contamination, teneur en principe actif, homogénéité...etc) afin d'obtenir un produit de bonne qualité et conforme aux exigences du dossier d'AMM.

Enfin, ce travail nous a permis de consolider nos connaissances dans le domaine pharmaceutique, et nous a donné l'opportunité d'acquérir une expérience professionnelle grâce à l'assistance des analystes et des techniciens exerçant au sein de la filiale Biotic. En perspective, comme suite à ce travail, nous proposons de :

- Remplacer les ampoules autocassables en flacons PVC, car cela permet de minimiser le risque de contamination de la solution buvable avec les microparticules de verres qui se développent au moment de l'ouverture de l'ampoule, et réduit le coût élevé de production du verre pour les industries pharmaceutiques.
- Substituer la méthode actuelle de stérilisation du produit fini en allant du système manuel au système automatique, cela permet d'obtenir une stérilisation complète et d'éviter toute contamination microbienne tout au long de la chaîne de production. Et tester la stabilité du produit fini après 6 mois de sa fabrication.
- Réaliser contrôle en cours du médicament FRUBIAL® faible, c'est-à-dire du produit semi-fini, cela permet de découvrir précocement les anomalies de production ainsi que les contaminations avant d'arriver à la phase de conditionnement.
- Réaliser un contrôle physico-chimique, organoleptique et des essais limites pour le gluconate de calcium ainsi que les autres excipients que nous n'avons pas traité dans ce travail à savoir : l'acide phosphorique, l'agar agar, le saccharose, le colorant, l'aromatisant et les solvants polaires (eau purifiée, éthanol).

**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

**A**

- **Abdel-Razek AS, El-Naggar ME, Allam A, Morsy OM, Othman SI.** Microbial Natural Products in Drug Discovery. Processes. **2020.** 8 :470
- **Al Mobaker Z.** La gestion des modifications dans une industrie pharmaceutique. Thèse pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, université Mohammed V-Rabat. Maroc, **2017**, 104p.
- **Amara I , Telli D.** Contrôle qualité de l'anti-inflammatoire « UBACTIVE®400mg », Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en chimie, université Larbi Ben M'hidi (Oum El Bouaghi), Algérie. **2020.**79p.
- **Abbas D.** Synthèse, étude physico-chimique et preformulation d'un dérivé pyrido [3,2g] quinoleine triméthyle. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie, université de la méditerranée AIX-Marseille. France, **2010**,183p.

**B**

- **Boutamina NE.** Les fondateurs de la pharmacologie, 2<sup>ème</sup> édition. France. **2014.**176p ;
- **Baaziz S.** Contrôle de qualité physico-chimique de Bronchocalme adulte 0.2% sirop, Projet de fin d'études en Master 2, université M'Hamed Bougara-Boumerdes. Algérie, **2017**,99p.
- **Barret R.** Principes fondamentaux de chimie thérapeutique : médicaments, propriétés physico-chimiques, pro-drogues, Pharmacophore. Great Britan by ISTE editions. Angleterre. **2018.**156p.
- **Boucenane K.** Etude de processus de fabrication et de contrôle qualité d'une forme liquide, sirop antitussif « Eupnex », Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master professionnel en bioindustrie, Analyse et Contrôle, université Frères Mentouri Constantine 1. Algérie, **2018**,80p.

- **Buisine L.** La qualité et son management en industrie pharmaceutique : s'imposer un cadre restrictif ou plutôt s'ouvrir à de nouveaux horizons ? , Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en Pharmacie, université de Lorraine. France, **2016**,88p.
- **Baptiste J.** Nouvelle annexe 1 des bonnes pratiques de fabrication : évolutions et impacts sur les industries pharmaceutiques .Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en Pharmacie, Faculté de santé, université D'Angers. France .**2020** ,100p.
- **Braulio GR.** Prédiction de la dégradation de la vitamine C en conditions de traitement thermique : étude en milieu modèle liquide entre 50 et 90 °C .Thèse pour obtenir le grade de docteur délivré par l'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (AgroParisTech).**2016**.179p.

### D

- **Desclaux A.,Ergot M.** Le médicament diffusé au sud contextes, formes culturelles et effets sociaux observe depuis les marges : la pharmaceuticalisation à ses marges. Ed : IRD, L'Harmattan .France, **2015**,273p.
- **Diakite A, Irie MGB, N'Dri DK, Yapo JA.** Détermination de la contamination par l'Aflatoxine B1 de la pâte d'arachide consommée par la population en Côte d'Ivoire : intérêt de la Chromatographie sur Couche Mince. International Journal of Biological and Chemical Sciences. **2017**. 11(4): 1646-1654
- **Dao H, Lakhani P, Police A, Kallakunta V, Ajjarapu SS, Wu KW,Narasimha MurthyS.** Microbial stability of pharmaceutical and cosmetic products. AAPS PharmSciTech, **2017**.19(1): 60–78
- **De Gerlache J, Isnard P.** L'évolution des besoins des industriels en matière de toxicologie.- L'évolution des besoins des industriels en matière de toxicologie. l'actualité chimique, **2012**, (367-368).

- **Dujourdy L, Santin B. et Soto T.** Chimie des couleurs et investigations préliminaires en police scientifique INPS, Service central des laboratoires, France (Paris), **2013**, p : 378-379.

**E**

- **Esteki M,Shahsavari Z,Simal-Gandara J.** Food identification by high performance liquid chromatography fingerprinting and mathematical processing. Food Research International. **2019**. 122:303-317
- **Etame LoeG, YinyangJ, OkallaEbongueC, Makondo B,V, NgabaG, P, Mpondo E, Dibong SD.** Étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait au vin des graines de Caricapapaya Linn- , Journal of Applied Biosciences.**2017**. 120: 12077-12085.
- **Erhirhie EO, Ihekwereme CP, Iiodigwe EE.** Advances in acute toxicity testing: strengths, weaknesses and regulatory acceptance. Interdisciplinary toxicology, **2018**. 11(1) : 5–12

**F**

- **Frullani Y.** La qualité à l'officine : un enjeu d'avenir. Actualités Pharmaceutiques. **2014**. 53(540):40–45

**G**

- **Gana I.** Caractérisation physique et chimique des substances a activité thérapeutique. application aux études de profil de stabilité et de préformulation . Thèse pour l'obtention du grade de docteur en sciences pharmaceutiques ,université Paris- Descartes. France, **2015**, 215p.
- **Goumri Said S.** Le marketing des produits pharmaceutiques-Les mesures stratégiques adoptées par l'entreprise algérienne.Thèse de doctorat en sciences économiques, université Djilali Liabes- Sidi Bel Abbes.Algérie, **2017**,374p.
- **George M, Brenner PHD, Craig S.** Introduction to Pharmacology, Pharmacology. Saunders. 4th edition. État-unis, **2012**, 528p.
- **Govinda V, Manish M.** Development and optimization of uv-vis spectroscopy. World Journal of Pharmaceutical Research, **2018**, 7(11) :1170-1180.

- **Gauvain E.** Optimisation des contrôles en cours de production sur ligne de conditionnement (seringues, flacons et ampoules).Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie, U.F.R. de médecine et de pharmacie de Rouen. France. **2012**.112p
- **Gachout L, Diaye MA, Benbraika AO,** Les médicaments génériques en Algérie un marché en plein essor : cas du groupe SAIDAL. revue des sciences commerciales.**2017**. 16(4) : 92-109
- **Gilbert L.** Caractérisation physico-chimique et sensorielle d'ingrédients cosmétiques : une approche méthodologique. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en chimie, université du Havre. France. **2012**,283p.

### I

- **Iskounen S, Simoneau G, Mouly S.** Etude prospective des facteurs associés à l'acceptation de la substitution des génériques par les patients et leurs médecins libéraux. La Revue de Médecine Interne. **2017**. 39(11) : 849-854

### K

- **Kinch MS.** The rise (and decline?) of biotechnology. Drug Discovery Today, **2014**. 19(11), 1686–1690
- **Kiran R, Sonesh U, Anjana J, Satej B, Parmar R, Modh P.** A novel approach on synthetic drugs. International Journal of Future Generation Communication and Networking. **2021**.14(1):2722–2727.
- **Kouassi Goh S.** Etude rétrospective du contrôle de qualité des médicaments au Laboratoire National de la Santé de 2012 à 2019. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en Pharmacie, université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako. Mali. **2020**.65p.

**L**

- **Li XL, Zhang FH, Jian RK, Ai YF, Ma JL, Hui GJ, Wang DY.** Influence of eco-friendly calcium gluconate on the intumescent flame-retardant epoxy resin: Flame retardancy, smoke suppression and mechanical properties. *Composites Part B : Engineering.* **2019.** 176(1): 107200.
- **Landrier JF.** Vitamine D : sources, métabolisme et mécanismes d'action. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.***2014.** 49(6) :245–251.
- **Le Hir JC, Chaumeil D, Brossard D.** Pharmacie galénique : bonne pratique de fabrication des médicaments, 9ème Edition, Masson,Paris. **2009.**382p.

**M**

- **Moazami Omid A.** Quelle est la part des plaintes psychiques dans la survenue de la iatrogénie chez les patients polyopathologiques, Suivis par les médecins de l'observatoire de médecine générale ? .Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en médecine, université de versailles .France. **2016.**67p.
- **Mallet, E.** Vitamine D. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture.* **2014.** 27(1) : 29–38.
- **Mosser M.** Molécules chirales à géométrie hélicoïdale : synthèse et modulation de leurs propriétés spectroscopiques par leur environnement. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en chimie. Université de Lyon. France.**2019.**230p.
- **Messaoudi H, Guennaz F.** Contrôle physico-chimique, microbiologique et toxicologique d'un médicament obligatoirement stérile FRUBIAL<sup>®</sup> faible, mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie, université Saad Dahleb-Blida-1, Algérie. **2012.**55p

**N**

- **Nicoud L, Licordari F, Myerson AS.** Estimation of the solubility of metastable polymorphs. A critical review. *Crystal Growth & Design*, **2018**.18(11) : 7228–7237
- **Ngono Mballa R, Kuate J, Nguidjoe EM, Djoko E.,Wouessidjewe D.** Situation de l'Industrie Pharmaceutique au Cameroun : État des Lieux et Perspectives. *Health sciences and diseases (HSD)*, 2019,20(2) : 56-61.
- **Nouiri A.** Analyse de l'action didactique, de sa continuité et de ses déterminants. cas de l'enseignement de titrage acide – base en classes de terminales tunisiennes. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en didactique des disciplines scientifiques, université de Toulouse - Jean Jaurès, France. **2016**.334p.

**O**

- **Ounas,** Chimie Analytique. Conférence .Polycopié de cours. Faculté de médecine d'Alger– département de pharmacie – laboratoire de chimie analytique. **2016**. p13.
- **Ouedraogo S, Yoda J, Traore TK, Nitiema M, Sombie BC, Diawara HZ, Yameogo JBG, Djande A, Belemnaba L, Kini FB, Ouedraogo S, Semde R.** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **2021**. 15(2) : 750-772.

**P**

- **Prevost S.** L'Assurance Qualité en support de la production et mise en application lors de la mise en place d'une nouvelle ligne de production d'ampoules buvables. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie, université de Poitiers. France.**2016**.107p.
- **Piroux A.** Vitamine D et Covid-19. *Actualités Pharmaceutiques*. **2021**. 60(605) : 52–55.
- **Pierronnet R.** l'assurance qualité, révélateur d'universités entrepreneuriales à la française. *revue-projectique*. **2018**. 1(19) : 23-40

- **Pont E.** Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique selon la pharmacopée Européenne : Evolution Des Connaissances Et Des Méthodes Analytiques De Contrôle. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en Pharmacie, université De Limoges, France, **2011**.63p.
- **Pharmacopée européenne.**9<sup>ème</sup> édition publiée par la direction européenne de la qualité du médicament &soins de santé, ISBN : 978\_92\_871\_8126\_8 **2017**.
- **Pfotenhauer KM, Shubrook JH.** Vitamin D Deficiency: its role in health and disease, and current supplementation recommendations. The Journal of the American Osteopathic Association. **2017**. 117(5): 301-305

### R

- **Ragued H, Guerch A.** Contrôle qualité physico-chimique des formes intermédiaires des comprimés Valsartan/Hydrochlorothiazide 80/12.Smg au cours de la validation du procédé de fabrication. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie. Faculté de médecine .université de Saad Dahleb .Blida. Algérie. **2019**. 146p.

### S

- **Schlienger JL, Monnier L.** De l'opothérapie à l'hormonothérapie Médecine Des Maladies Métaboliques. **2018**.12(4) : 387-392
- **Schlienger JL, Monnier L.** Histoire de la vitamine D, une centenaire à laquelle on prête peut-être davantage qu'elle ne peut tenir. Médecine Des Maladies Métaboliques.**2019**. 13(4) : 375–383.
- **Sandle T.** Towards a Rapid Sterility Test?.J MicrobBiochemTechnol. **2015**. 7(4) :217-218.
- **Schlienger JL.** De l'opothérapie à l'hormonothérapie. Médecine des Maladies Métaboliques. **2018**. 12(4), 387–392.
- **Souberbielle JC.** Actualités sur la vitamine D. Cahiers de Nutrition et de Diététique. **2013**. 48(2), 63–74.

- **Sandulescu R, Oprean R, Ede B, Cristea C.** Chimie analytique quantitative: analyse volumétrique et gravimétrique : Guide de travaux pratiques. Edition Risoprint. *Cluj Napoca*. Roumanie. **2020**. 188p.
- **Singh VK, Chaudhary AK.** Ayurvedic natural excipients: an advance option for modern medicaments. *International journal of pharmaceutical sciences and research (IJPSR)*. **2016**. 7(12): 4743-4755,
- **Seynabou T.** Méthodes d'analyse des impuretés élémentaires dans les produits finis, les substances actives et excipients : revue systématique. Thèse Pour l'Obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie, Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohammed V de Rabat. Maroc. **2020**. 196p.
- **Sidibe OI.** Contrôle de qualité des médicament antipaludiques dans sept (07) régions administratives du Mali et le district de Bamako : opérationnalisation des kits Minilabs .Thèse Pour l'Obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, université de Bamako, Mali. **2011**. 121p.
- **Servant L, Le Bourdon G, Buffeteau T.** Comprendre la spectroscopie infrarouge : principes et mise en œuvre, *Photoniques*. **2011** .53 : 68 -73.

### T

- **Taqarort Chadli S.** Vitamine D et risque des infections respiratoires aiguës : grippe et COVID-19. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **2020**. 34(3) : 211–215.
- **Terbouche F.** Optimisation de la méthode d'analyse physicochimique d'un antidiabétique orale metformine comprimé, mémoire de master en chimie, université mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Algérie. **2012**. 92p.
- **Trehel C.** Gestion du risque de contamination croisée en industrie pharmaceutique. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de bordeaux. France. **2015**. 115p.

- **Terrai CH, Zekkari N, Amrani S.** Optimisation de la méthode de dosage par Hplc du chlorhydrate d'amiodarone dans les comprimés doses à 200 mg. Thèse d'exercice présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, université Saad Dahleb-Blida-1. Algérie .2019.148p
- **Talbert M , Willoquet G, Labayle D.** Guide pharmaco, Edition Lamare, France, **2001.** p : 25-44.

### Y

- **Van Hoeckeh H.** Excipients à effet notoire des médicaments à action systémique en médecine bucco-dentaire. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire, Université de Lorraine. France. **2016.** 196p.

### W

- **Watson DG.** Pharmaceutical analysis a textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists. University of steathclyde. Glasgow. UK .ISBN 0443059861. **1999.** pp:75-94

### Z

- **Zhong X, Di Z, Xu Y, Liang Q, Feng K, Zhang Y, Di L, Wang R.** Mineral medicine: from traditional drugs to multifunctional delivery systems. Chinese medicine. **2022.** 17(1) :21.
- **Zamble Orphee JM.** Contrôle analytique des médicaments à base d'Albendazole et de Mébendazole vendus en République de Guinée - cas de la ville de Conakry .Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur pharmacie, université Gamal Abs Nasser de Conakry. Guinée. **2008.** 56p.
- **Zouanti Z.** l'accès aux médicaments en Algérie : Une ambiguïté entre les brevets des multinationales et le marché du générique. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de docteur en science économiques, université Hassiba Ben Bouali de Chlef. Algérie. **2013.** 270p.

**Références du web**

- **Meyer C.** Dictionnaire des Sciences Animales. [On line]. Montpellier, France, Cirad. [18/03/2022]. <http://dico-sciences-animales.cirad.fr>.
- **Montastruc JL et al .,** Lexique de pharmacologie médicale, Laboratoire de Pharmacologie Médicale et Clinique Faculté de Médecine, Toulouse. [20/03/2022] [https://www.chu-toulouse.fr/IMG/pdf/lexique\\_2020.pdf](https://www.chu-toulouse.fr/IMG/pdf/lexique_2020.pdf)

# ANNEXES

**A.1. Matériel utilisé dans le contrôle physico-chimique des matières premières et du produit fini**

Nom d'appareillage	Photos
<b>Balance de précision</b>	
<b>Spectrophotomètre UV/VIS</b>	
<b>HPLC Alliance et accessoire</b>	
<b>Agitateur vortex</b>	
<b>Etuve</b>	

<p><b>Plaque chauffante</b></p>	
<p><b>Bain ultrason</b></p>	
<p><b>Four à moufle</b></p>	
<p><b>Polarimètre</b></p>	
<p><b>pH mètre</b></p>	
<p><b>Spectrophotomètre d'absorption dans l'infrarouge</b></p>	

## A.2. Verrerie et instruments utilisés dans le contrôle physico-chimique

Instruments en verre/métal	Instruments à usage unique/consommables
-Tubes à essais -Béchers -Fioles -Erlenmeyers -Eprouvettes -Burette -Pipettes graduées (1 ml ,2 ml , 5 ml ,10 ml, 25 ml) -Entonnoirs -Spatule	-Papier filtre -Filtre seringue avec membrane de filtration 0,45µm -Gants de protection

## A.3. Solutions, réactifs et indicateurs colorés

Produits utilisés pour l'analyse des matières premières	Produits utilisés pour l'analyse du produit fini
-Solution d'oxalate d'ammonium à 35g/l -Solution de molybdate d'ammonium -Solution de sulfate di potassique à 10g/l -Edetate de sodium 0,02M -Solution tampon chlorure d'ammonium pH10,7 -Solution jaune -Solution rouge -Solution bleue -Solution de thiosulfate de sodium 0,1M -Solution d'amidon -Iode à 0,05M - Eau distillée -Acide oxalique -Ethanol à 96% -Sulfate de cérium -Acide chlorhydrique dilué R -Acide sulfurique -Acide nitrique dilué R -Acide acétique dilué R -Ammoniaque dilué R -Mordant noir 11R -Acide chlorhydrique -Sulfate de zinc -Nitrate d'argent -Méthanol -Acide sulfurique 0,005M -Acide acétique glacial -Acide chlorhydrique 0,01M -Molybdate d'ammonium	-Solution de sulfate de zinc 0,1M -Soude 1N -Solution d'empois d'amidon -Iode 0,05M -Solution de thiosulfate de sodium 0,1M -Tampon ammoniacal pH10 -Phénolphtaléine -EDTA sel disodique dihydraté 0,1M -Iode 0,1N -Noir erichrome -Méthanol

#### A.4. Protocoles de préparation des solutions dilués R pour le contrôle physico-chimique

Selon la PE (2017), Les réactifs utilisés pour le contrôle physico-chimique des matières premières et le produit fini sont représentés dans le tableau ci-dessous:

Réactif	Préparation
<b>Acide chlorhydrique dilué R</b>	Contient 73g/l de HCL. Prélever 20 g d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec l'eau distillée.
<b>Acide nitrique dilué R</b>	Prélever 20 g d'acide nitrique et compléter à 100 ml avec l'eau distillée.
<b>Ammoniaque dilué R1</b>	Prélever 41 g d'ammoniaque concentré et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
<b>Solution de nitrate d'argent R2</b>	Solution de nitrate d'argent à 17g/l conservée à l'abri de la lumière.
<b>Acide acétique dilué R</b>	Prélever 12 g d'acide acétique glacial et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
<b>Mélange composé au mordant noir 11R</b>	Mélanger 1 g de mordant noir et 99 g de chlorure de sodium.
<b>Solution jaune</b>	Dissoudre 46 g de chlorure ferrique R dans 900ml d'un mélange de 25ml d'acide chlorhydrique R et de 975 ml d'eau distillée puis compléter a 1000 ml avec le même mélange .Titrer et ajuster la solution à 45 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ par millilitre, par addition du même mélange acide. Conserver à l'abri de la lumière.
<b>Solution rouge</b>	Dissoudre 60 g de chlorure de cobalt R dans 900 ml d'un mélange de 25 ml d'acide chlorhydrique R et 975 ml d'eau distillée puis compléter à 1000 ml avec le même mélange.Titrer et ajuster la solution à 59,5 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ par millilitre, par addition du même mélange acide.
<b>Solution bleue</b>	Dissoudre 63 g de sulfate de cuivre pentahydraté R dans 900 ml d'un mélange de 25 ml d'acide chlorhydrique R et 975 ml d'eau distillée puis compléter à1000 ml avec le même mélange .Titrer et ajuster la solution à 62,4 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ par millilitre ,par addition du même mélange acide.

<b>Alcool exempte d'aldéhyde R</b>	Mélanger 200 ml d'éthanol à 96% avec 5 ml d'une solution de nitrate d'argent à 400 g /l. Ajouter 10 ml d'une solution refroidie d'hydroxyde de potassium à 500 g/l. Agiter, laisser reposer pendant quelque jours. Filtrer et distiller le filtrat au moment de l'emploi.
<b>Acide acétique</b>	Prélever 30 g d'acide acétique glacial R et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
<b>Acide acétique dilué R</b>	Prélever 12 g d'acide acétique glacial R et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
<b>Acide sulfurique diluée R</b>	A 60ml d'eau distillée, ajouter 5,5 ml d'acide sulfurique R, laisser refroidir et compléter à 100 ml avec le même solvant Dosage : dans une fiole a bouchon rodé contenant 30ml d'eau distillée, introduire 10 ml d'acide sulfurique dilué Titrer par l'hydroxyde de sodium 1M en présence de 0,1 ml de solution rouge de méthyle R.
<b>Solution d'amidon R</b>	Triturer 1 g d'amidon soluble avec 5 ml d'eau et verser en agitant continuellement dans 100 ml d'eau bouillante à laquelle ont été ajouté 10 mg d'iodure mercurique.

**B.1. Matériel utilisé dans le contrôle microbiologique**

Nom d'appareillage	Photos
<b>Hotte à flux laminaire</b>	
<b>Etuve</b>	
<b>Bec bensen</b>	
<b>Incubateur</b>	

**B.2. Instruments et produits chimiques utilisés**

- ✓ Flacons stériles
- ✓ Gants de protection
- ✓ Pipettes pasteur stériles
- ✓ Boîtes de Pétri
- ✓ Ethanol 70%

### B.3. Protocoles de préparation des milieux de culture pour le contrôle microbiologique

D'après la PE (2017) et le manuel microbiologique MERCK (2020) les milieux de culture utilisés pour la recherche des bactéries aérobies/anaérobies ainsi que les levures et moisissures est représenté dans le tableau ci-dessous :

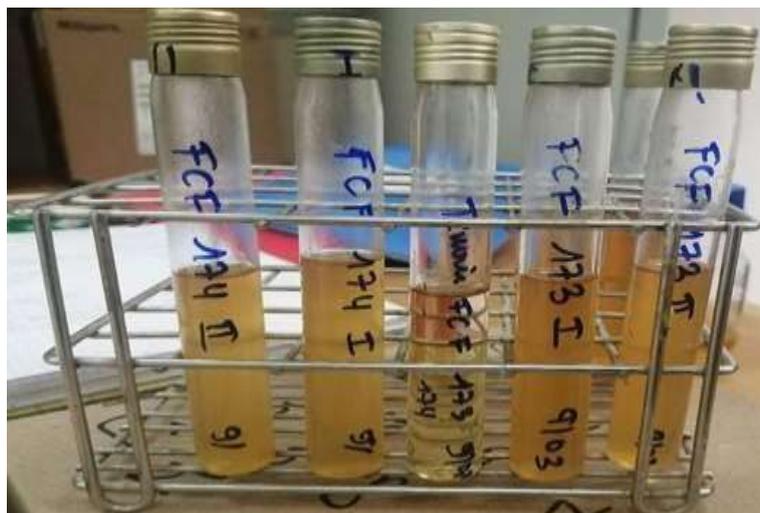
Milieu	Composition	Quantité (g/l)
<b>Milieu liquide au Thioglycolate (TH)</b>	L cystéine	<b>0,5g</b>
	Gélose	<b>0,75g</b>
	Chlorure de sodium	<b>2,5g</b>
	Glucose monohydraté/glucose	<b>5,5 /5g</b>
	Extrait de levure	<b>5g</b>
	Hydrolysate pancréatique de caséine	<b>15g</b>
	Thioglycolate de sodium 0,5g ou acide	<b>0,3ml</b>
	Thio glycolique	<b>1ml</b>
	Solution de résazurine disodique	<b>1000ml</b>
	Eau distillée	
<b>pH = 7,1±0,2</b>		
<b>Milieu liquide Sabouraud dextrose</b>	Dextrose	<b>20g</b>
	Mélange de peptone de tissus animal et de peptone pancréatique de caséine	<b>10g</b>
	Eau distillée	<b>1000ml</b>
	<b>pH= 5,6±0,2</b>	
<b>Milieu gélosé au peptone de caséine et de soja</b>	Peptone pancréatique de caséine	<b>15g</b>
	Peptone papique de soja	<b>5g</b>
	Chlorure de sodium	<b>5g</b>
	Gélose	<b>15g</b>
	Eau distillée	<b>1000ml</b>
	<b>pH = 7,3±0,2</b>	
<b>Milieu Sabouraud dextrose gélosé</b>	Dextrose	<b>40g</b>
	Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine	<b>10g</b>
	Gélose	<b>15g</b>
	Eau distillée	<b>1000ml</b>
	<b>pH = 5,6±0,2</b>	



Milieu liquide Thioglycolate



Milieu liquide *Sabouraud* dextrose



Résultats obtenus après ensemencement sur milieu liquide suivi d'une incubation, pour la recherche des germes viables (bactéries, levures et moisissures).

## C.1. Matériel utilisé dans le contrôle toxicologique

Instruments et produits chimiques	Photos
Gants à usage unique	
Seringue 2 ml avec sonde de gavage gastrique	
Erlenmeyer en verre	
Becher en verre	
Balance de précision à $\pm 0,1g$	
Solution diethyl éther et isopropyl éther	

**C.2. Composition de l'aliment (granulés) fournis aux souris durant l'expérimentation**

Composition	Suppléments
Maïs, tourteau de soja issues de meunerie, calcaire, phosphates, sel, acides aminés, oligo-éléments, poly-vitamines, antioxydant.	Antioxydant : BHT Vitamines : A, E, D3



Souris mâles de race *Albinos* utilisées dans le test de toxicité

**D.1. Résultats du contrôle physicochimique et biochimique :****D.1.1. Matière première :****D.1.1.1. Phosphate bicalcique**

## 1. Dosage

$$\text{Dosage (\%)} = \frac{(V_t - V_e) \times C_t}{P_e} = \frac{(24,65 - 12,9) \times 3,44}{0,4006}$$

$$\text{Dosage} = 100,89\%$$

◆ **Norme** : le dosage doit être compris entre 98% et 105%.

**D.1.1.2. Vitamine D2**

## 1. Pouvoir rotatoire

$$[\alpha]_{D}^{20} = \frac{\alpha \times V}{P} = \frac{+0,854 \times 25}{0,2006} = +106,43^\circ$$

◆ **Norme** : Le pouvoir rotatoire doit fluctuer entre +103° et +107°.

## 2. Dosage par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

$$\text{Dosage (\%)} = \frac{S_e}{S_t} \times \frac{C_{t1}}{P_e} \times C_{t2} = \frac{131945}{96614} \times \frac{10,5}{14} \times 98,09$$

$$\text{Dosage} = 100,52\%$$

◆ **Norme** : le dosage doit être compris entre 97 et 103%.

### D.1.1.3. Acide ascorbique

#### 1. Pouvoir rotatoire spécifique

$$[\alpha]_{D}^{20} = \frac{\alpha \times V}{P} = \frac{+2,10 \times 25}{2,5016} = +20,98^{\circ}$$

◆ **Norme :** Le pouvoir rotatoire doit être compris entre  $+20,5^{\circ}$  à  $+21,5^{\circ}$ .

#### 2. Dosage

$$\text{Dosage (\%)} = \frac{V \times C_t \times T}{P_e} \times 100 = \frac{17,2 \times 8,1 \times 0,995}{150,6} \times 100$$

$$\text{Dosage} = 100,11\%$$

◆ **Norme :** le dosage doit être compris entre 99,0% et 100,5%.

### D.2.2. Produit fini

#### D.2.2.1. Dosage de calcium

$$\text{Dosage (mg/amp)} = [(10 \times \Theta_1) - (n \times \Theta_2)] \times 4,008 = [(10 \times 1) - (6,2 \times 1)] \times 4,008$$

$$\text{Dosage} = 15,23 \text{ mg/amp}$$

#### D.2.2.2. Dosage de l'acide ascorbique

$$T(\text{en mg/amp}) = (V_b - V_{\text{essai}}) \times F \times 8,806 = (5 - 3,7) \times 1 \times 8,806$$

$$T = 11,44 \text{ mg/amp}$$

**D.2.2.3. Dosage de la vitamine D2 par HPLC**

$$\text{Teneur en vitamine D2} = \frac{S_e}{S_t} \times \frac{P_{et}}{100} \times \frac{1}{50} \times \frac{50}{V_e} \times \frac{1500}{37,5} \times 5 \times 10 \times \text{pureté}$$

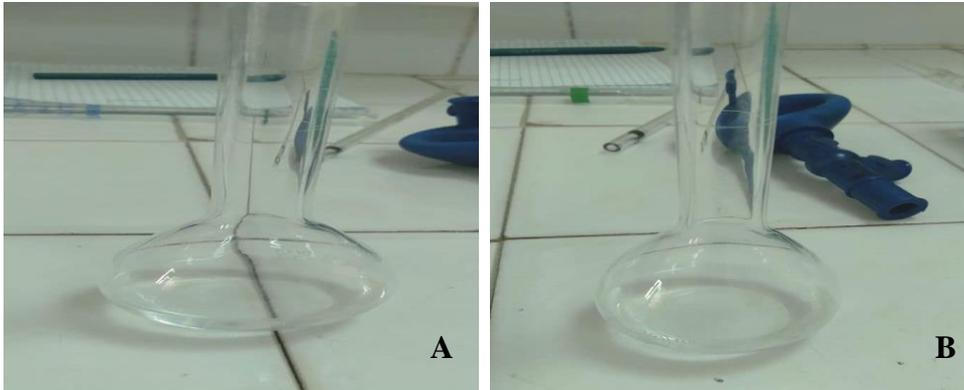
$$\text{Teneur en vitamine D2} = \frac{96128}{118048,4} \times \frac{10,5}{100} \times \frac{1}{50} \times \frac{50}{10} \times \frac{1500}{37,5} \times 5 \times 10 \times 100,52$$

**Teneur en vitamine D2=1718,94 UI/amp**

✚ Résultats d'analyse des matières premières

❖ Résultats du contrôle physico-chimique

- Résultats du contrôle de principe actif phosphate bicalcique



Résultat de la recherche des impuretés inorganiques

**A:** recherches des carbonates, **B:** recherche du baryum.

- Résultats du contrôle de l'excipient acide ascorbique

- Résultat du pH de la solution S



Résultats du pH mesuré par le pH mètre  
(photo originale, 2022).

❖ **Résultats du contrôle biochimique des matières premières**

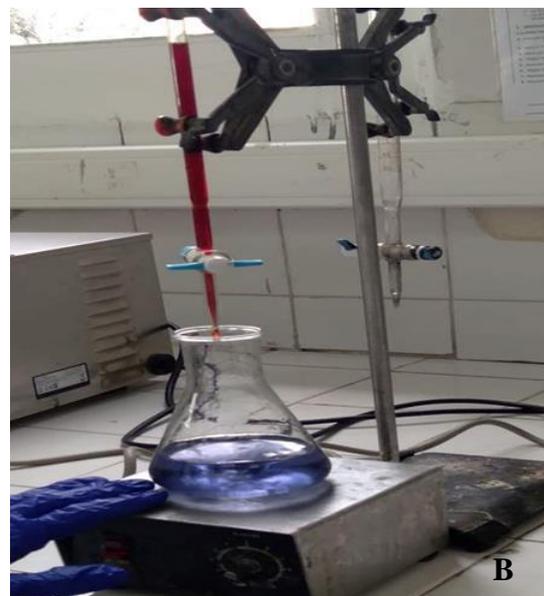
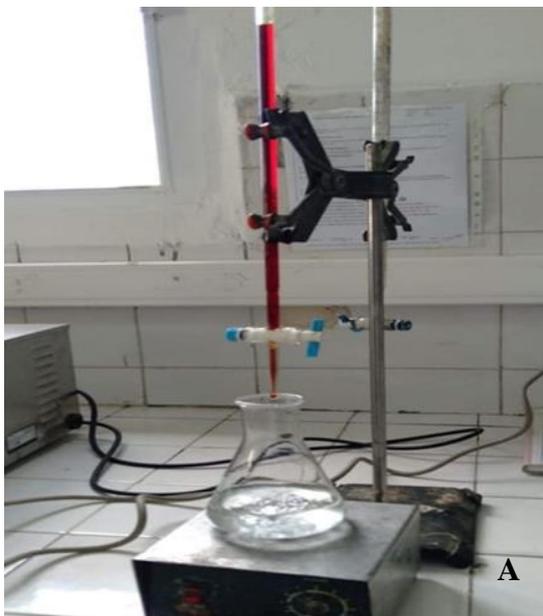
• **Dosages volumétriques**

➤ **Dosage de phosphate bicalcique**



Aspect de la solution après virage de la couleur au bleu  
(photo originale, 2022).

➤ **Dosage de l'acide ascorbique**



Aspect de la solution réactionnelle avant (A) et après (B) titrage de l'acide  
ascorbique par l'iode 0,005M (photo originale, 2022).

## ✚ Résultats d'analyse du produit fini

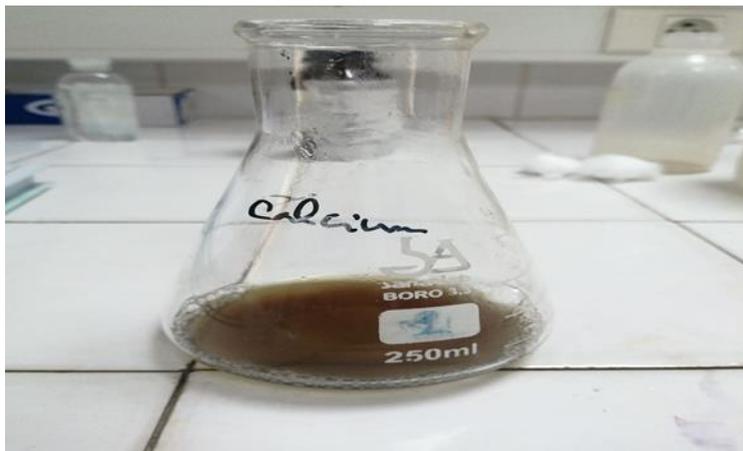
- Mesure du pH



Mesure du pH du produit fini par le pH mètre (**photo originale, 2022**).

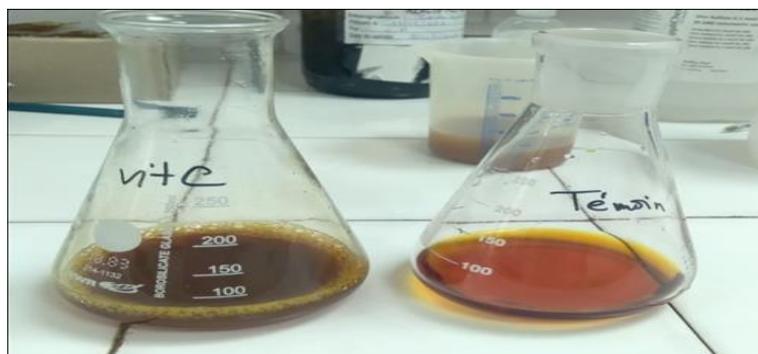
## ❖ Résultats du Contrôle biochimique du produit fini

- Résultats du dosage par titrage volumétrique
  - Dosage du calcium



Aspect du mélange réactionnel obtenu après virage de la couleur au point d'équivalence (**photo originale, 2022**).

- Dosage de la vitamine C



Aspect du mélange réactionnel obtenu lors du dosage de l'acide ascorbique contenu dans le produit fini (**photo originale, 2022**).