

INTRODUCTION

Le secteur de la santé publique est un secteur particulièrement compliqué et délicat. Il se présente comme un système composé de plusieurs volets interactifs. Le médicament constitue à ce titre le volet le plus appréciable (**Ankri, 1999**). Le médicament est défini comme toute préparation utilisée pour prévenir, diagnostiquer, soigner une maladie un traumatisme ou pour restaurer, corriger, modifier les fonctions organiques. Aujourd'hui, l'ensemble des médicaments est fabriqué par l'industrie pharmaceutique (**Bourrillon *et al.*, 2002 ; Debré, 2010**).

La qualité des médicaments est un des majeurs soucis des professionnels des services de santé et des patients ; elle se définit par la maîtrise de l'ensemble des paramètres et propriétés qui permettent d'assurer la sécurité des patients, et amener le médicament à un niveau d'exigences satisfaisant. Afin d'atteindre cette qualité, il faut évaluer tous les risques susceptibles à la détérioration du médicament et qui affectent la santé du patient (**Khan et Akhtar, 2015**).

Les médicaments risquent des altérations à différents niveaux de la chaîne de fabrication. Elles peuvent être d'ordre physico-chimique ou microbiologique. Par conséquent, le producteur doit suivre tout le processus de fabrication et les étapes de contrôle qualité au sein des laboratoires ; ce contrôle de qualité s'exerce à tous les stades, sur les matières premières, sur le produit en cours de la fabrication, et sur le produit fini (**Sengupta *et al.*, 2018**).

Cependant, un système d'assurance de qualité est obligatoire pour permettre de fabriquer et de contrôler les médicaments selon des règles et des procédures pré-établies et systématiques permettant de mettre à la disposition du malade des médicaments présentant les garanties de qualité décrites dans le dossier d'enregistrement (**Levacher, 2006 ; Boiteux-Jurain *et al.*, 2015**).

En outre, la qualité du médicament est régie de façon réglementaire et minutieusement examinée durant tout le processus de développement, fabrication et de contrôle. En effet, l'industrie pharmaceutique a pour objectif la mise en œuvre de méthodes performantes de fabrication et de contrôle en vue de promouvoir un meilleur accès à un traitement sûr et efficace (**Siddiqui *et al.*, 2017**).

A titre d'exemple, les médicaments destinés à être appliqués sur la peau représentent, certainement, une des plus anciennes formes pharmaceutiques, puisqu'elles ont été appliquées soit pour soigner les blessures, soit pour embellir la peau, les onguents et les poudres de beauté, ancêtres des produits cosmétiques modernes. En effet, la formulation des préparations destinées à la voie cutanée doit tenir compte des caractères propres de la peau et de ses annexes ainsi que des caractères physico-chimiques du Principe Actif (PA) qui lui permettront, ou non, de franchir la barrière cutanée afin d'exercer une action générale (**Aiache *et al.*, 2001 ; Martini, 2011 ; Bolzinger *et al.*, 2015**).

Par ailleurs, les médicaments génériques sont de plus en plus distribués dans le monde, en raison de leur coût allégé par rapport aux médicaments princeps. Cette vulgarisation ne doit cependant pas être faite au détriment de la qualité, au risque de nuire à la santé du patient et du consommateur. Or, l'un des moyens proposés par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), pour veiller à la qualité des médicaments génériques, est de contrôler leur qualité avant toute distribution (**Yacoub et Laperche, 2010 ; Nga et al., 2018**). Les médicaments peuvent provoquer des effets secondaires et peuvent être responsable d'intoxication par surdosage ou par interactions médicamenteuses (**Le Hir, 2001**).

En Algérie, l'industrie pharmaceutique a connu une révolution importante durant ces dernières années (**Ziani et Brahamia, 2012**) ; les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés dans une industrie nationale, en l'occurrence les laboratoires « SAIDAL » situés à Alger. Parmi l'ensemble des médicaments génériques fabriqués par cette société, nous avons opté pour un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) topique utilisé par voie cutanée, à savoir le gel cutané Prixam[®] (Piroxicam, 0,5%).

La problématique de notre étude trouve son origine dans les deux questions suivantes :

- Ce médicament générique AINS mérite-il cette autorisation de mise sur le marché ?
- Sa qualité obéit-elle aux normes en vigueur de la Pharmacopée Européenne ?

Dans ce contexte, l'objectif assigné à notre étude consiste à contrôler la qualité organoleptique, physico-chimique et microbiologique d'une préparation pharmaceutique semi-solide non obligatoirement stérile (gel AINS de marque Prixam[®], (Piroxicam 0.5%, tube de 50 g)) fabriqué par l'Unité Saidal, ainsi que certains excipients qui sont considérés comme matières premières. Aussi, les dosages du Principe Actif (PA) et des impuretés dans le gel topique ont été effectués par spectrophotométrie d'absorption dans l'Infra-Rouge (IR) et par la Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC). En outre le contrôle de la qualité microbiologique du gel a été réalisé selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne. Le dernier volet de cette étude concerne l'évaluation, *in vivo*, du pouvoir anti-inflammatoire topique du gel Prixam[®] par l'utilisation du test de l'œdème des oreilles induit par le xylène, et ce afin de vérifier son efficacité dans la réduction de l'inflammation locale.

Partie 1

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1

Synthèse Bibliographique

1.1. Médicaments

1.1.1. Définition

Un médicament c'est toute substance utilisée pour prévenir, atténuer, ou guérir une maladie ou ses symptômes (**Gaignault, 1982**). C'est « Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'Homme ou chez l'animal, ou pouvant leur être administrée en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » (**Gouraud, 2012**).

1.1.2. Origine des médicaments

Les origines des médicaments sont regroupées dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1. Origines des médicaments (**Delamare, 2002**).

Origines	Définition	Exemples
Origine végétale	L'utilisation des plantes en thérapeutique (Phytothérapie) est très ancienne. On utilise soit la plante entière, soit les produits d'extraction qu'elles fournissent.	Morphine : extraite de la capsule du pavot à opium
Origine animale	L'utilisation d'organes ou de glandes fraîches en thérapeutique est aussi ancienne que les plantes	Hormones polypeptidiques extractives, l'insuline
Origine minérale	Ce sont souvent des produits minéraux naturels employés comme principes actifs ou excipients de médicaments	Argiles, Bicarbonate de sodium, Sulfate de magnésium, calcium, fer
Origine microbiologiques	Il s'agit essentiellement de : vaccins obtenus à partir de bactéries ou de virus	Antibiotiques
Origine synthétique héli-synthétique	Principale source de production des médicaments modernes. Molécules complexes obtenues par des méthodes de synthèse de chimie organique,	Acide acétylsalicylique
Origine biotechnologique.	biogénétique: On utilisant les méthodes de "génie génétique ", on peut fabriquer des substances naturelles polypeptidiques présentant toutes les caractéristiques de leur modèle humain.	Hormones (hormone de croissance, l'insuline).

1.1.3. Dénomination des médicaments

Tout médicament est caractérisé par la désignation chimique de son principe actif. La Dénomination Chimique Internationale (D.C.I) est un ou divers noms de marque aussi appelés noms de fantaisie (Dessaigne, 2004).

1.1.4. Médicament princeps

Le nom chimique est l'interprétation exacte de la molécule chimique du médicament. Il n'est pas employé en pratique habituelle. La DCI est le nom abrégé de la molécule chimique. Elle est assignée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (Aveline *et al.*, 2000).

1.1.5. Médicament générique

Le nom de « spécialité » ou « nom de marque » est confère à une molécule par le laboratoire qui le commercialise. Une semblable molécule active est fréquemment vendue par un grand nombre de laboratoires sous de nombreux noms de spécialités distinctes. Le signe ® qui joint les noms de spécialités désigne «Registered» en anglais, c'est-à-dire propriété commerciale (Aveline *et al.*, 2000). C'est une copie conforme du médicament de référence ou "princeps", le médicament générique, peut être fabriqué et commercialisé sous un nom différent par des laboratoires pharmaceutiques agréés. Le médicament générique répond aux mêmes critères de qualité et de sécurité que les produits de référence et est contrôlé par l'agence nationale de la sécurité du médicament et des produits de santé (AFSSAPS). Dans un médicament générique on peut changer les excipients selon les besoins du laboratoire (ANSM, 2016).

1.1.6. Composition d'un médicament

Un médicament se compose d'un ou de plusieurs principe actifs et d'excipients. L'ensemble étant contenu dans un récipient (figure 1.1) (Talbert *et al.*, 2001).

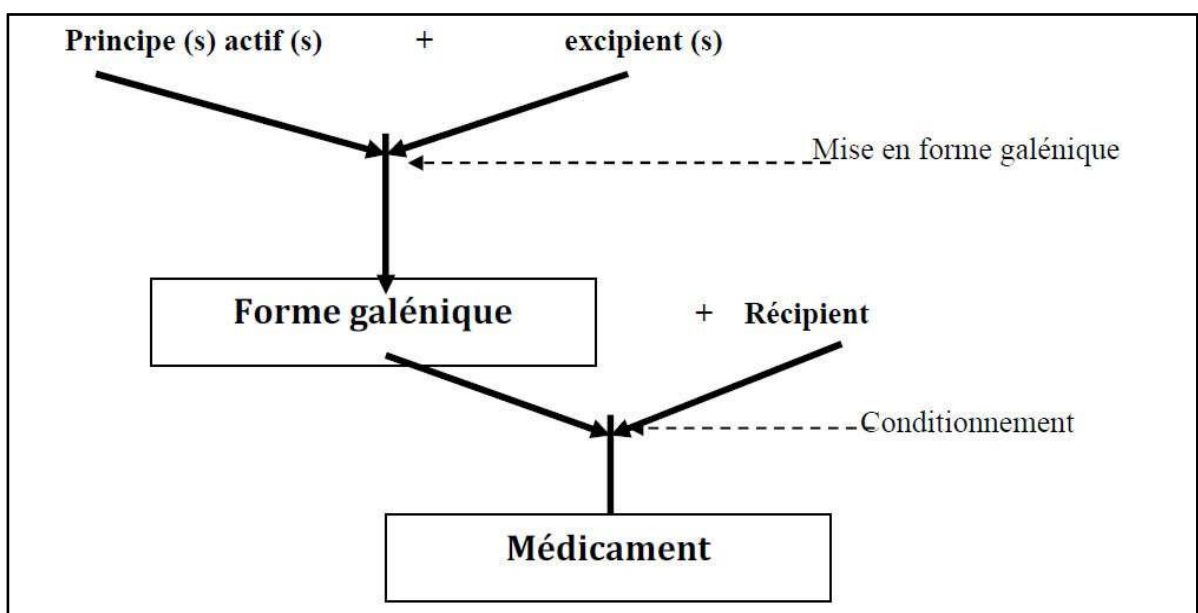


Figure 1.1. Mise en forme d'un médicament (Talbert *et al.*, 2001).

1.1.6.1. Principe actif

Le principe actif d'un médicament est une substance d'origine chimique ou naturelle caractérisée par un mécanisme d'action curatif ou préventif précis dans l'organisme. C'est une substance active douée de propriétés pharmacologiques, et est donc à la base de l'effet thérapeutique (Talbert *et al.*, 2001).

1.1.6.2. Excipients

En général, le ou les principes actifs sont associés à un ou plusieurs excipients. Un excipient (du latin *excipere* : recevoir; l'excipient reçoit le principe actif) est une substance ou un mélange de substances dites auxiliaires, inactives par elles-mêmes sur la maladie, qui facilitent la préparation et l'emploi du médicament. Celui-ci comporte en plus le conditionnement qui en facilite la délivrance, l'utilisation et en assure la conservation (Aiache *et al.*, 1995).

1.1.6.3. Récipient

Le récipient pour usage pharmaceutique est un article qui contient ou qui est destiné à contenir un produit et qui est ou peut être en contact direct avec celui-ci. La fermeture fait partie du récipient (Chauvel, 1996).

1.1.6.4. Matière première

Les matières premières sont des substances actives, excipients et éléments de mise en forme pharmaceutique destinés à être utilisés ou administrés chez l'Homme ou l'animal (Husson, 2011).

1.1.7. Devenir du médicament dans l'organisme

Le médicament possède deux vies distinctes : l'activité pharmacologique du principe actif, à sa mise en forme pharmaceutique, après formulation, fabrication et conditionnement en milieu industriel en vue de sa délivrance au public (figure 1.2) (Aiache *et al.*, 2001).

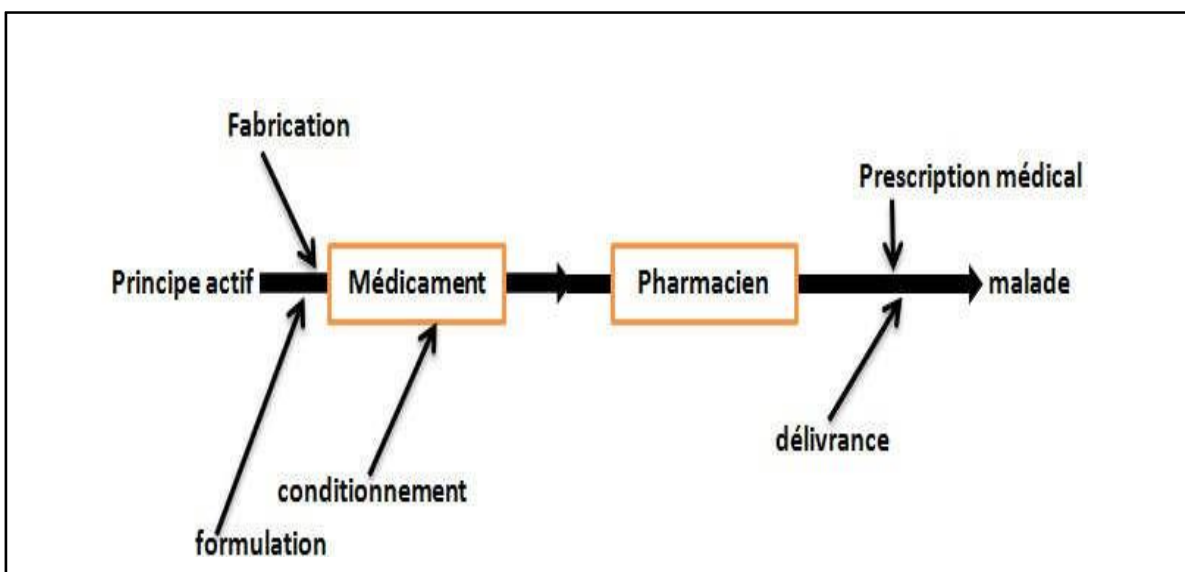


Figure 1.2. Première vie du médicament (Aiache *et al.*, 2001).

La seconde vie du médicament débute lorsque le malade ouvre le conditionnement et applique ou ingère le médicament (s'il s'agit d'un médicament destiné à la voie orale) (Figure 1.3). Les phénomènes qui vont se succéder dans l'organisme, après son introduction sont classiquement désignés sous le nom de devenir : il s'agit d'un processus dynamique qui conduit à l'effet thérapeutique du principe actif. Le devenir du médicament dans l'organisme, comporte lui-même trois phases distinctes :

- la phase biopharmaceutique
- la phase pharmacocinétique
- la phase pharmacodynamique

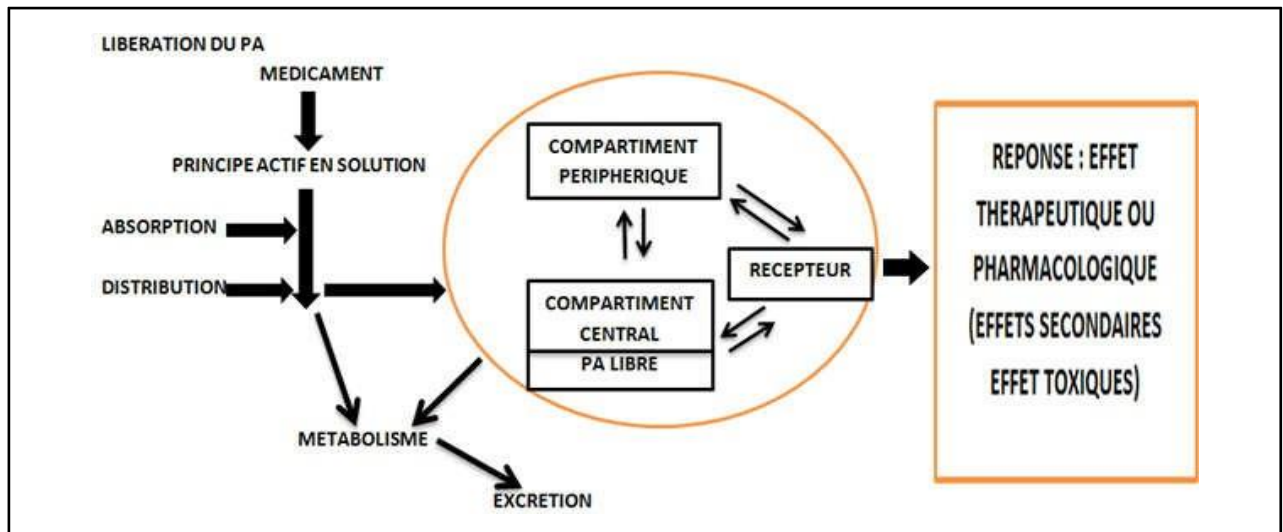


Figure 1.3 : Deuxième vie du médicament : LADMER (Libération, Absorption, Métabolisme, Excrétion, Réponse) (Aiache *et al.*, 2001).

1.1.8. Mode d'administration des médicaments

C'est la voie qu'emprunte le médicament pour pénétrer dans le corps vers la circulation sanguine ou pour agir localement. Plusieurs voies d'administration peuvent être utilisées (tableau 1.2): la voie parentérale (injectable) et la voie trans-muqueuse (pulmonaire, rectale, oculaire...) (Stora, 2008).

1.2. Gels topiques

1.2.1. Définition: Les gels sont constitués de liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés.

1.2.2. Classification

il existe 2 types :

1.2.2.1. Gels hydrophobes : les gels hydrophobes (oléogels) sont des gels dont l'excipient est habituellement constitué de paraffine liquide additionnée de polyéthylène, d'huiles grasses gélifiées par de la silice colloïdale ou de savon d'aluminium ou de zinc (Aiache *et al.*, 2001).

1.2.2.2. Gels hydrophiles : les gels hydrophiles (hydrogels) sont des gels dont l'excipient est habituellement de l'eau, du glycérol ou du propylène glycol gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés tels que la gomme adragante, l'amidon, des dérivés de la cellulose, des polymères carboxyvinyliques ou des silicates de magnésium-aluminium. Ces gels sont actuellement très utilisés dans le domaine cosmétique (**Aiache et al., 2001**).

1.2.3. Gels médicamenteux

Dans le domaine pharmaceutique, les gels peuvent se présenter en plusieurs types: les gels transdermiques, les gels dentaires, les gels nasaux, les gels ophtalmiques, et les gels vaginaux (**Bounouira, 2015**).

Tableau 1.2. Principales formes et voies d'administration des médicaments (**Le Hir, 2001**)

Formes principales	Voie
<ul style="list-style-type: none"> • Forme solide : <ul style="list-style-type: none"> ✓ Comprimés ✓ Pilules ✓ Capsules ✓ Gélule ✓ Granules ✓ Pastilles • Forme liquide : <ul style="list-style-type: none"> ✓ Sirops ✓ Solution buvables ampoules 	Orale
<ul style="list-style-type: none"> • Suppositoires 	Rectale
<ul style="list-style-type: none"> • Pommades • Crèmes dermique • Gels • Lotions 	Percutanée
<ul style="list-style-type: none"> • Solutions aqueuse pulvérisées ou non 	O.R.L
<ul style="list-style-type: none"> • Solutions aqueuses 	Ophtalmique
<ul style="list-style-type: none"> • Ovules • Solutions aqueuses 	Vaginale

1.2.4. Gels transdermiques

Ils appartiennent aux préparations semi-solides tout comme les pommades, les pâtes, et les crèmes. Mais les gels sont en train de gagner de plus en plus de popularité grâce à leur facilité d'application et leur absorption percutanée. Les gels souvent fournissent une libération plus rapide de la substance médicamenteuse par rapport aux crèmes et aux onguents indépendamment de la solubilité de l'eau du médicament (**Saroha, 2013**).

1.2.5. Conditions requises pour les médicaments administrés par voie cutanée

- Le mélange de médicaments doit être stable.
- Doivent être moins irritants pour la peau.
- Ne doivent créer aucun changement dans l'apparence de la peau.
- Ne doivent présenter aucune gêne pour le patient.
- Peuvent être utilisés comme matrices pour ces médicaments, donc ils doivent présenter les caractéristiques suivantes: les principes actifs doivent se dissoudre et le produit de dissolution doit être transparent.
- Doivent être flexibles, non collants, et confortables.
- Doivent être utilisés sans problème sur les zones pileuses (**Kajiwara et Osada, 1997**).

1.2.6. Avantages et les inconvénients de la voie cutanée

Les formes galéniques utilisées par cette voie sont des préparations semi-solides pour application locale (pommades, crème, gels, pates), des mousses médicamenteuses, des préparations liquides (comme les solutions, les lotions, les liniments), des sinapismes, des formes adhésives cutanée, dispositifs transdermiques (**Aiache et al., 2001**). Les avantages et inconvénients de la voie cutanée sont illustrés dans le tableau 1.3.

Tableau 1.3. Avantages et inconvénients de la voie cutanée (**Aiache et al., 2001**).

Avantages	Inconvénients
Les médicaments sont appliqués, directement à l'endroit où ils doivent agir en cas d'action locale, ou dans une zone que les principes actifs traverser facilement ce qui facilite leur absorption pour exercer une action générale sans première passage hépatique. On parle alors de disponibilité cutanée ou biodisponibilité cutanée.	Il faut noter que la peau saine présente une perméabilité sélective mais que si elle est malade ou lésée, sa perméabilité est fortement augmentée et certaines substances incapable de la traverser normalement sont absorbés et provoquer des réactions secondaires.

1.3. Inflammation

1.3.1. Définition

L'inflammation est un ensemble de phénomènes réactionnels se produisant au point irrité par un agent pathogène et aussi par un agent physique ou chimique (**Bossokpi., 2003**). Elle se traduit ordinairement par quatre symptômes cardinaux : Rougeur, chaleur, douleur, et lésion fonctionnelle (figure 1.4) (**Schorderet et al., 1998**). L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore des régulations anormales du processus inflammatoire (**Bouhini, 2016**).

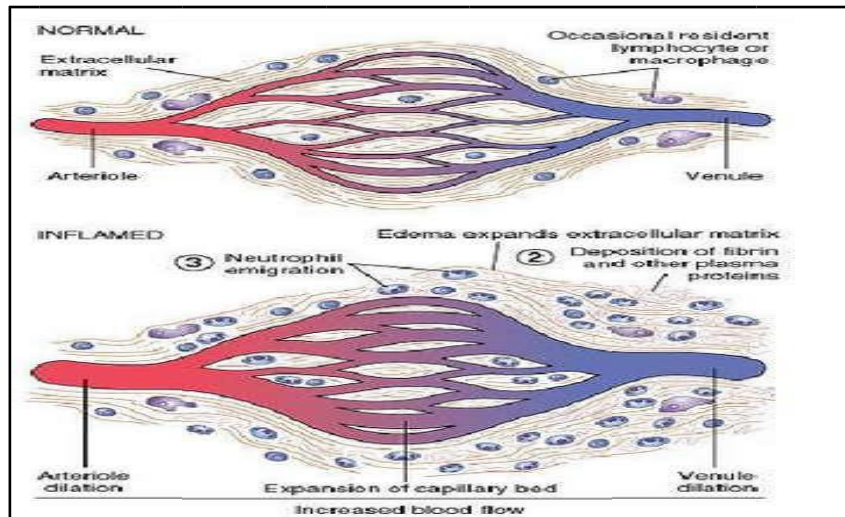


Figure 1.4. Schéma comparatif entre un tissu normal et enflammé.

1.3.2. Causes de l'inflammation

Les agressions sont de natures variées. Elles peuvent être :

- ✓ Traumatiques (coupure, écrasement, entorse, fracture...);
- ✓ Chimiques ou physiques (brûlure, gelure, radiations ionisantes...);
- ✓ Origine infectieuse (infections bactérienne, virale, fongique, parasitaire...) due à des éléments solides endogènes ou exogènes (cristaux d'urate, toxines...)
- ✓ Origine allergique (**Rahmani, 2017**).

1.3.3. Etapes de la réponse inflammatoire

La réaction inflammatoire est un processus dynamique comportant plusieurs étapes successives : phase vasculaire, cellulaire et la phase tissulaire (figure 1.5):

1.3.3.1. Phase vasculaire

Action sur la coagulation : le système sympathique crée une vasoconstriction, et les plaquettes sont activées pour colmater les « trous ». Ces dernières synthétisent le thromboxane A2 qui entraîne une vasoconstriction et une agrégation plaquettaire aboutissant à un clou hémostatique. A la suite de ce mécanisme, le facteur XII produit de la fibrine qui renforce le clou hémostatique précédemment formé (**Grandin, 2013**).

1.3.3.2. Phase cellulaire ou de résolution

La migration extra vasculaire (diapédèse) des leucocytes et la libération de cytokines sont à l'origine de l'activation cellulaire et de la libération de médiateurs (**Kidd et Urban, 2001**). Dès lors une succession d'évènements au sein de la lésion inflammatoire entraîne : la phagocytose d'agents extérieurs, la captation et la présentation d'antigènes, la production de radicaux libres. Les cytokines en outre agissent au niveau systémique pour augmenter la défense de l'hôte sous forme de fièvre (**Bounihi, 2016**).

1.3.3.3. Phase tissulaire ou de résolution

C'est la phase ultime ou de réparation. La cellule dominante est le fibroblaste qui synthétise les fibres de collagène et les muco-polysaccharides aboutissant à la constitution d'un nouveau tissu conjonctif (Pieri et Kirkiacharian ,1992).

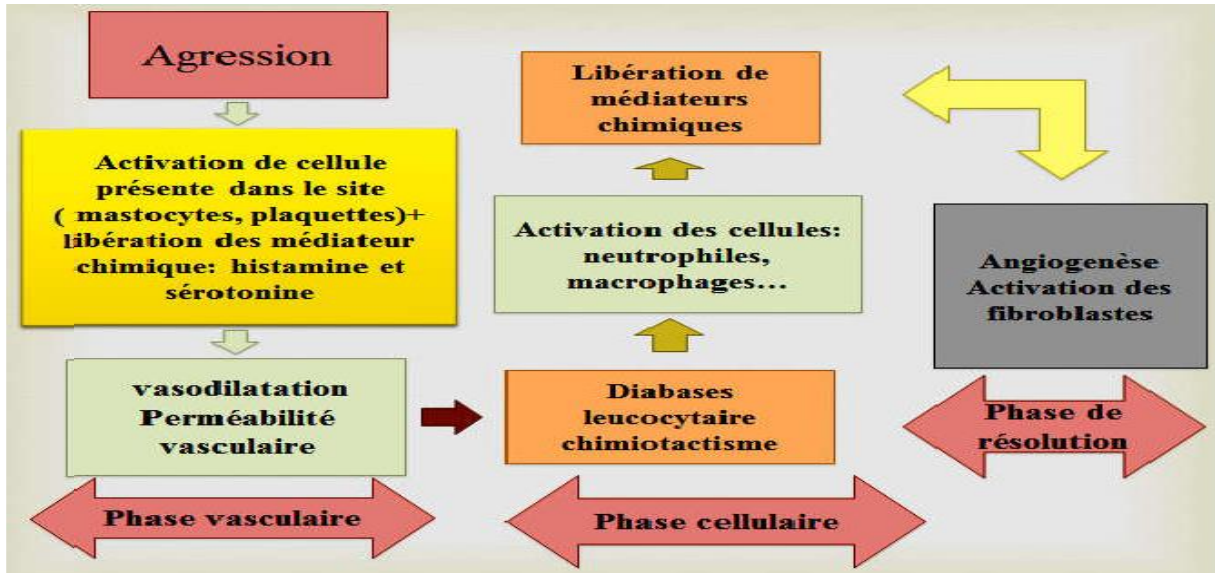


Figure 1.5. Etapes de l'inflammation (Original, 2018).

1.3.4. Types d'inflammation

1.3.4.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur, elle est caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses, par une forte présence des Polymorphonucléaires au niveau du foyer inflammatoire (charle et al., 2010). Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante. Les étapes de la réponse inflammatoire aiguë sont toujours les mêmes quelque soient le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé

1.3.4.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est une réponse prolongée qui intervient lorsque l'inflammation aiguë n'est pas résolue ni par la restitution intégrale ni par la cicatrisation. Elle peut être consécutive à une inflammation aiguë ou commencer plus tôt et évoluer à bas bruit : on parle d'inflammation de bas grade. On peut la retrouver lorsque l'agent pathogène est persistant, si les mécanismes de régulation et de terminaison de l'inflammation aiguë ne sont pas efficaces, ou si l'organisme n'est pas en mesure de répondre à cause de maladies intercurrentes (Kirassian, 2015).

1.4. Anti-inflammatoires

1.4.1. Définitions

Les AI appartient à des classes chimiques très variées et agissent de façon purement symptomatique sur la réaction à spécifique des tissus à un agent agresseur (Muster, 2005).

Ils sont utilisés quand les processus de réaction inflammatoire sont exagérés par rapport à la cause initiale, dans les maladies rhumatismales, dans les réactions immunitaires exagérées, dans les dégénérescences cartilagineuses des articulations (Cohen, 1997).

1.4.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont parmi les médicaments les plus fréquemment prescrit dans le monde (4.5% de la consommation médicamenteuse des pays industrialisés). Les AINS forment un groupe de médicaments destinés à traiter la réaction inflammatoire et les maladies rhumatismales. Tous les AINS possèdent à des degrés divers les propriétés anti inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques quelle que soit la voie d'administration. Ils agissent sur la phase vasculaire de l'inflammation. Ils réduisent la vasodilatation, la perméabilité capillaire mais aussi la migration des leucocytes et perturbent les réactions énergétiques nécessaires au processus inflammatoire (Charpentier *et al.*, 2004). Ils comprennent les pyrazolés et les salicylés qui vont avoir une action sur la phase initiale de l'inflammation et l'indométacine (Cohen, 1997). Les AINS bloquent la biosynthèse des prostaglandines par inhibition de l'enzyme Cyclo-Oxygénase (COX) (Schorderet, 1989).

1.4.3. Mécanisme d'action Le mécanisme d'action commun de tous les AINS est la diminution de la production de prostaglandine du fait de l'inhibition de la Cyclo-Oxygénase (COX-1 et COX-2), comme l'indique la figure 1.6.

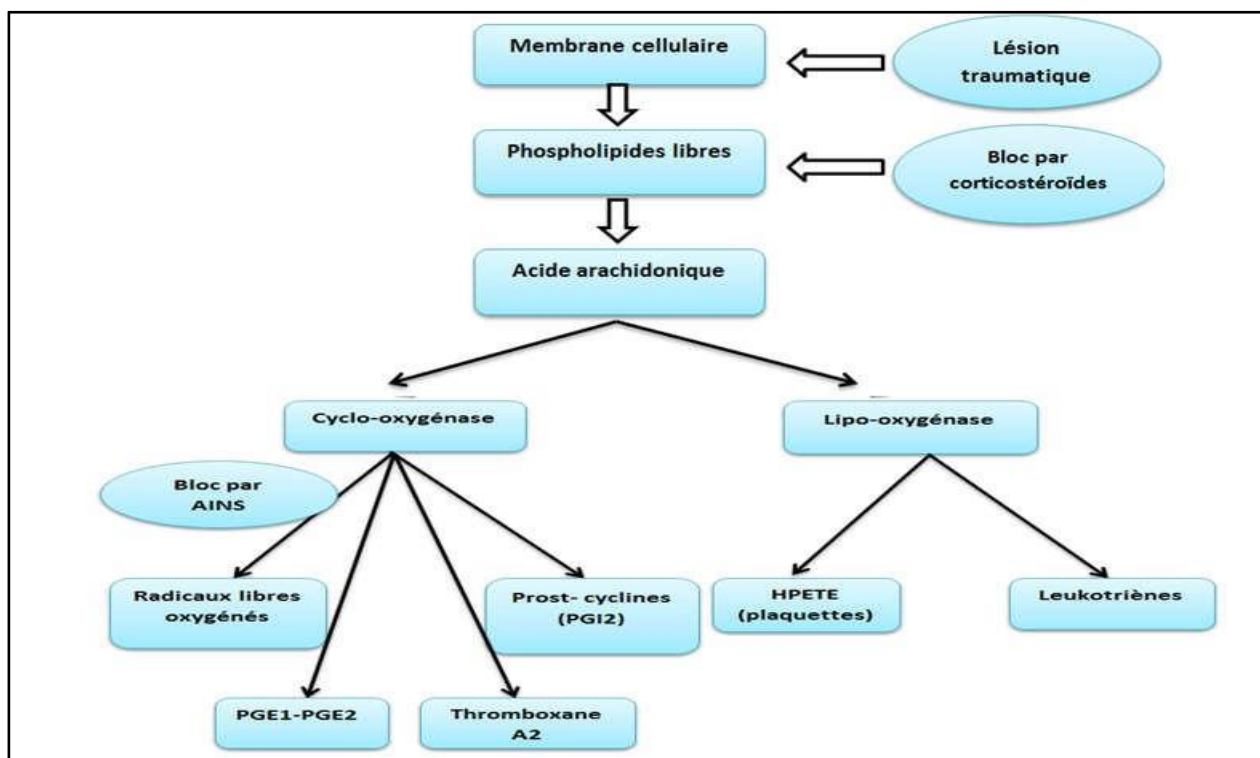


Figure 1.6. Diminution de la production de prostaglandine par inhibition de cyclo-oxygénase (Ziltener *et al.*, 2010).

1.4.4. Classification Les AINS sont regroupés en plusieurs familles chimiques qui possèdent certaines particularités. On distingue ainsi :

- Les anti-inflammatoires indoliques : indométacine ;
- Les anti-inflammatoires arylcarboxyliques : diclofénac ;
- Les anti-inflammatoires oxicams : piroxicam ;
- Les anti-inflammatoires anthraniliques (fénamates) : acide niflumique ;
- Les anti-inflammatoires pyrazolés : phénylbutazone ;
- Les anti-inflammatoires salicylés : acide acétylsalicylique (ne possède des propriétés anti-inflammatoire qu'à fortes doses [3 à 6 g /j]) (**Talbert *et al.*, 2006**).

1.4.5. But de l'utilisation des anti-inflammatoires

C'est de suspendre ou de ralentir la réaction inflammatoire. Ils sont utilisés lorsque la réaction inflammatoire est exagérée et chronique ou associée à des phénomènes immunologiques (**Gazengel et Orecchioni, 1999**).

1.4.6. Pharmacovigilance

1.4.6.1. Effets indésirables

Les AINS présentent, à des degrés divers, les mêmes risques d'effet indésirables, quelle que soit la voie d'administration (**Baumloh, 2000**).

➤ **Effets indésirables liés à l'inhibition des prostaglandines (PG)**

- Troubles gastroduodénaux : Nausées, diarrhée, douleurs épigastrique ;
- Ulcère gastroduodéal et Hémorragie digestive ;
- Asthme et bronchospasme : contre-indication à tous les AINS dont l'aspirine (**Menard, 1995**).
- Troubles rénaux : Insuffisance rénale, néphrites interstitielles aiguës (**Talbert, 1998**).

1.4.6.2. Indications thérapeutiques

Les AINS sont utilisés en traitement de longue durée dans les rhumatismes inflammatoires chronique (polyarthrite rhumatoïde) et les arthroses douloureuses et en traitement de courte durée :

- Cancérologie : douleur, hypercalcémies ;
- Cardiovasculaire : prévention d'accident ischémique ;
- Poussées douloureuses de l'arthrose ;
- Affections abarticulaires (tendinites, lombalgies, périarthrite) ;
- Arthrites microcristallines (goutte) ;
- En traumatologie ;
- En urologie (coliques néphrétiques) ;
- En gynécologie (dysménorrhée) ;
- Traitement adjuvant des manifestations inflammatoires en ORL (**Talbert, 1998**).

1.5. Gel anti-inflammatoire non stéroïdien (Prixam[®] 0,5 % (piroxicam gel))

1.5.1. **Excipients** : éthanol à 96%, alcool benzylique, carbopol 940, diisopropanolamine, propylène glycol, hydroxypropylméthylcellulose (hypromellose), hydroxyde de sodium, eau purifiée.

1.5.2. Principe actif et son importante utilisation par voie cutanée

Le piroxicam, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien aux effets analgésiques et antipyrétiques, il a été largement utilisé pour traiter les troubles musculo-squelettiques et articulaires tels que la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrose, la spondylarthrite ankylosante, les affections des tissus mous, la goutte aiguë et les affections post-douleurs opératoires. Il est bien absorbé après l'administration orale, cependant, son utilisation a été associée à un certain nombre d'effets secondaires indésirables sur l'estomac et les reins, en plus des lésions de la muqueuse gastrique (Sweetman, 2009). Ces effets peuvent s'aggraver à des problèmes rénaux et cardiovasculaires sévères conduisant finalement à la mortalité lorsqu'il est utilisé de manière chronique en particulier dans le cas de la population gériatrique. La méthode prometteuse pour diminuer ses effets indésirables consiste à administrer le médicament à travers la peau (Cordero *et al.*, 1997).

1.5.3. Propriétés du Prixam[®] 0,5%:

Les différentes propriétés de Prixam[®] 0,5% sont regroupées dans le tableau 1.4.

Tableau 1.4. Propriétés de Prixam[®] 0,5% (Dictionnaire SAIDAL, 2005)

Propriétés	Description
Indication	<ul style="list-style-type: none">• Tendinites superficielles• traumatiques bénins : entorses bénignes, contusion.
Posologie	Réserve à l'adulte (plus de 15 ans), varie de 2 à 4 applications par jour
Mode d'administration	<ul style="list-style-type: none">• Faire pénétrer le gel par un massage doux et prolongé sur la région douloureuse ou inflammatoire.• Bien se laver les mains après chaque utilisation.
Contre-indication	<ul style="list-style-type: none">• Femme enceinte (à partir de 6 mois)• antécédent d'allergie ou d'asthme déclenché par la prise de Piroxicam ou de substances d'activité proche telles qu'autres AINS.• Allergie à l'un des excipients.• Peau lésée, quelle que soit la lésion.
Mise en garde	<ul style="list-style-type: none">• Ne pas appliquer sur les muqueuses ni sur les yeux.• Prévenir votre médecin en cas d'antécédent d'asthme à une rhinite.• Contient du propylène glycol et peut provoquer des irritations.
Précaution d'emploi	éviter toute application sous pansement occlusif.
Interaction médicamenteuse	Afin d'éviter d'éventuelles interactions entre plusieurs médicaments, signalez systématiquement tout autre traitement en cours à votre médecin ou à votre pharmacien.

1.5.4. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique des produits topiques décrit les modalités de pénétration des substances actives au travers de la peau (figure 1.7). Il s'agit d'un domaine complexe car de nombreux paramètres influent sur les capacités de pénétration des produits dans la peau. L'obstacle principal à la pénétration des médicaments appliqués sur la peau est constitué par la couche cornée (stratum corneum), partie la plus superficielle de l'épiderme. Le stratum corneum est une couche de faible épaisseur (10 à 20 microns) mais très importante dans le maintien de l'homéostasie cutanée et dans la régulation des échanges thermiques et hydriques avec l'extérieur (Le Hir, 2001 ; Martini, 2011).

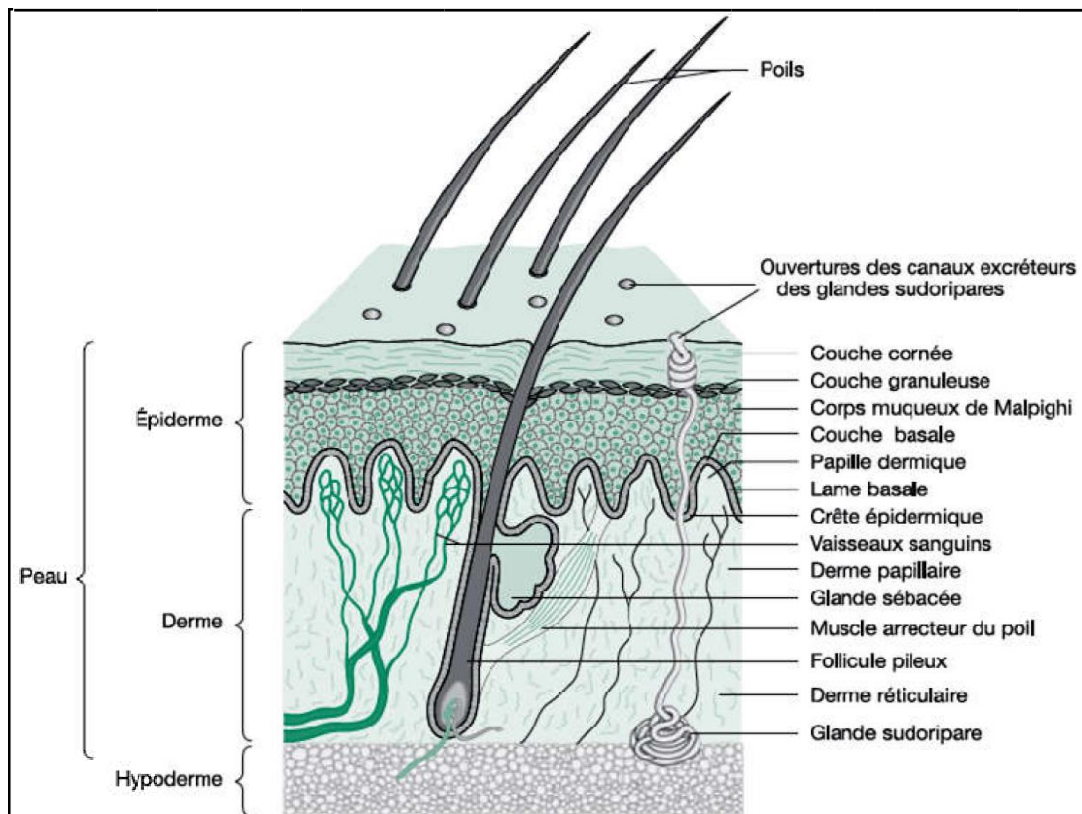


Figure 1.7: Coupe de la peau (Perlemuter et Perlemuter, 2010).

Pour la voie cutanée, le principe actif atteint la circulation sanguine, se répartit directement dans la circulation sans subir l'effet de premier passage hépatique. On dit que le principe actif est plus biodisponible que par voie orale : la vitesse d'action ou la quantité de médicament qui agit (ou les deux) est plus importante. (Martini, 2011).

1.5.4.1. Absorption

La cinétique de pénétration d'une substance au travers de la peau peut être schématiquement modélisée en trois phases :

- La libération du principe actif à partir de son excipient
- La pénétration du stratum corneum
- La diffusion dans les tissus vivants : l'épiderme, le derme et la circulation systémique au travers des vaisseaux dermiques (Martini, 2011).

1.5.4.2. Distribution

Ils sont fortement liés (75 à 95%) à l'albumine plasmatique, ce qui explique certaines interactions médicamenteuses avec d'autres médicaments à forte affinité pour les protéines plasmatiques (anti-vitamine K, sulfamides hypoglycémiant) (**Talbert, 1998**).

1.5.4.3. Métabolisme cutané

Il existe dans l'épiderme et dans le derme des activités enzymatiques pouvant contribuer au métabolisme de certains médicaments. Des réactions d'hydrolyse, d'oxydation, de réduction et de conjugaison peuvent être observées dans l'épiderme. Cependant la contribution du métabolisme cutané est modeste (moins de 5% du médicament absorbé en général) principalement en raison de la saturation rapide des enzymes cutanées qui sont exprimées à un niveau faible par la grande quantité de substance appliquée sur la peau. Cependant La plupart des AINS sont métabolisés par le foie (**Leimgruber, 2007**).

1.5.4.4. Elimination

La demi-vie est d'environ 50 heures et la plus grande partie de la dose se retrouve dans les urines sous forme du métabolite inactif 5-hydroxy-piroxicam.

1.6. Contrôle de la Qualité (CQ)

Le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) définit le contrôle de la qualité comme étant la vérification ou le contrôle de la conformité aux spécifications. L'OMS le définit comme étant toute mesure prise incluant la mise au point de spécifications, l'échantillonnage, l'analyse, et le traitement des données analytiques, afin de confirmer les matières premières, les produits intermédiaires, les articles de conditionnement et le produit pharmaceutique final pour assurer la conformité de ces substances aux spécifications établies (**Holloway, 2004**). Le contrôle de qualité est une des étapes de l'assurance de qualité (**Gentilini et al., 2012**).

1.6.1. But du contrôle de la qualité

Les objectifs du CQ sont de garantir à ce que les propriétés des matières premières et des produits finaux répondent en tout temps à des normes préalablement définies (**Hulse, 2008**).

1.6.2. Contrôle qualité des médicaments

Les contrôles sont des procédures (protocoles techniques standardisés et enregistrés) définies pour l'acceptation ou le refus des produits. Ils permettent de vérifier que des caractéristiques sont conformes à des spécifications pré-établis. Les contrôles se font :

- En amont de la production des matières premières ;
- En cours de fabrication Etapes intermédiaires ;
- En fin de fabrication Sur produit fini, ainsi que les articles de conditionnement. Ils doivent être établis par une personne qualifiée pour rédiger le certificat de conformité du produit (**Bonnet, 2007**).

1.6.3. Contrôle physico-chimique

Les contrôles physico-chimiques réalisés sur un médicament permettent de vérifier la qualité pharmaceutique des médicaments mis sur le marché. Les contrôles de qualité sont essentiellement basés sur des analyses physico-chimiques (**Pharmacopée européenne, 2014**) qui consistent à :

- Déterminer les caractères organoleptiques des différentes formes pharmaceutiques ;
- Identifier et doser le ou les principes actifs ;
- Déterminer la présence d'éventuelles impuretés et faire leur quantification ;
- Déterminer les caractères pharmaco-techniques en relation avec la forme pharmaceutique (désintégration, dissolution, sécabilité, pH, osmolalité, taille des particules....) (**Bouchard, 2009**).

1.6.4. Contrôles microbiologiques

La recherche des micro-organismes dans tous les produits destinés à l'Homme est vitale (**Delarras, 2014**). L'analyse des critères microbiologiques s'appuie sur des techniques de dénombrements, principalement des bactéries, des levures et moisissures.

Le but est en fait d'inspecter l'état sanitaire du produit avant la commercialisation (**Raiffaud, 2001**).

1.6.5. Assurance de qualité

Elle représente l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les préparations sont de la qualité voulue pour l'usage auquel elles sont destinées. Elle est acquise par la mise en œuvre d'un ensemble adapté à des activités préétablies et systématiques, destinées à donner confiance en l'obtention de la qualité requise (**Fonteneau et Klusiewicz, 2008**). Le but de l'assurance de qualité des produits pharmaceutiques est à la fois de garantir immédiatement la qualité des médicaments et de garantir la qualité de toutes les activités et prestations pharmaceutiques professionnelles qui influent sur la qualité des médicaments (**Alexandre, 2014**). Elle regroupe les :

- Bonnes Pratiques de Fabrication

Elles se présentent sous la forme d'un guide comprenant neuf chapitres indiquant les différents moyens à mettre en œuvre pour garantir la qualité des produits mis sur le marché (**Branger et al., 2007**). Il concerne les spécifications et le contrôle, l'échantillonnage, ainsi que les procédures d'organisation, de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées sont tangiblement effectuées et que les matières premières, les articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, pour la vente ou l'approvisionnement, sans que leur qualité n'ait été jugée acceptable.

- Bonnes Pratiques Cliniques (BPC)

Elles constituent un ensemble de revendications de qualité dans les domaines éthiques (moraux) et scientifiques, indubitables au plan international, qui doivent être respectées lors de la planification, la mise en œuvre, l'enregistrement et notification des essais cliniques (**Altavilla, 2012**).

Chapitre 2

Etude Expérimentale

Chapitre 2

MATERIEL et METHODES

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés dans l'une des industries algériennes l'unité Pharmal (groupe SAIDAL) localisée à Dar El Beida (Alger). Nous avons opté pour un anti-inflammatoire non stéroïdien topique utilisé par voie cutanée, en l'occurrence le gel Prixam® (Piroxicam à 0,5%).

Dans ce contexte, l'objectif assigné à notre étude consiste à contrôler la qualité organoleptique, physico-chimique et microbiologique d'une préparation pharmaceutique semi-solide non obligatoirement stérile (gel AINS de marque Prixam®, (tube de 50 g)) fabriqué par l'Unité Saidal ainsi que certains excipients qui sont considérés comme matières premières.

En outre, les dosages du Principe Actif (PA) et des impuretés dans le gel topique ont été effectués par spectrophotométrie d'absorption dans l'IR et par HPLC. De plus, le contrôle de la qualité microbiologique du gel a été réalisé selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne.

Enfin, le dernier volet de cette étude concerne l'évaluation, *in vivo*, du pouvoir anti-inflammatoire topique du gel Prixam® par le test de l'œdème des oreilles induit par le xylène afin de vérifier son efficacité dans la réduction de l'inflammation locale.

A cet effet, les différentes expérimentations de notre projet de fin d'études se sont étalées sur une période de 4 mois (de février jusqu'au mai 2018). Elles ont été réalisées dans les structures suivantes :

- Laboratoire de contrôle physicochimique et microbiologique de l'unité Pharmal (groupe SAIDAL) localisée à Dar El Beida (Alger).
- Laboratoire de toxicologie de l'unité Biotic (SAIDAL) située à Gué de Constantine (Alger).

Toutes les méthodes d'analyses utilisées et décrites ultérieurement sont celles qui sont recommandées par la 8^{ème} édition de la **Pharmacopée Européenne (2014)** et concernent les tests physico-chimiques et microbiologiques.

Echantillonnage et prélèvements

L'échantillon prélevé doit être effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuse pour éviter toute source de contamination. Les mentions suivantes ont été indiquées pour chaque prélèvement :

- ✓ La date de prélèvement
- ✓ La quantité prélevée
- ✓ Le numéro de lot et l'identification du produit

Au cours de fabrication, les prélèvements devront se faire en des points précis, de préférence au cours des transferts, en un point où le contrôle effectué sera efficace, c'est à-dire capable de rectifier une erreur avant que le produit n'en arrive à un stade irrécupérable.

2.1. Procédé de fabrication du PRIXAM 0,5%

Le procédé de fabrication du gel anti-inflammatoire non stéroïdien PRIXAM® est illustré dans la figure 2.1.

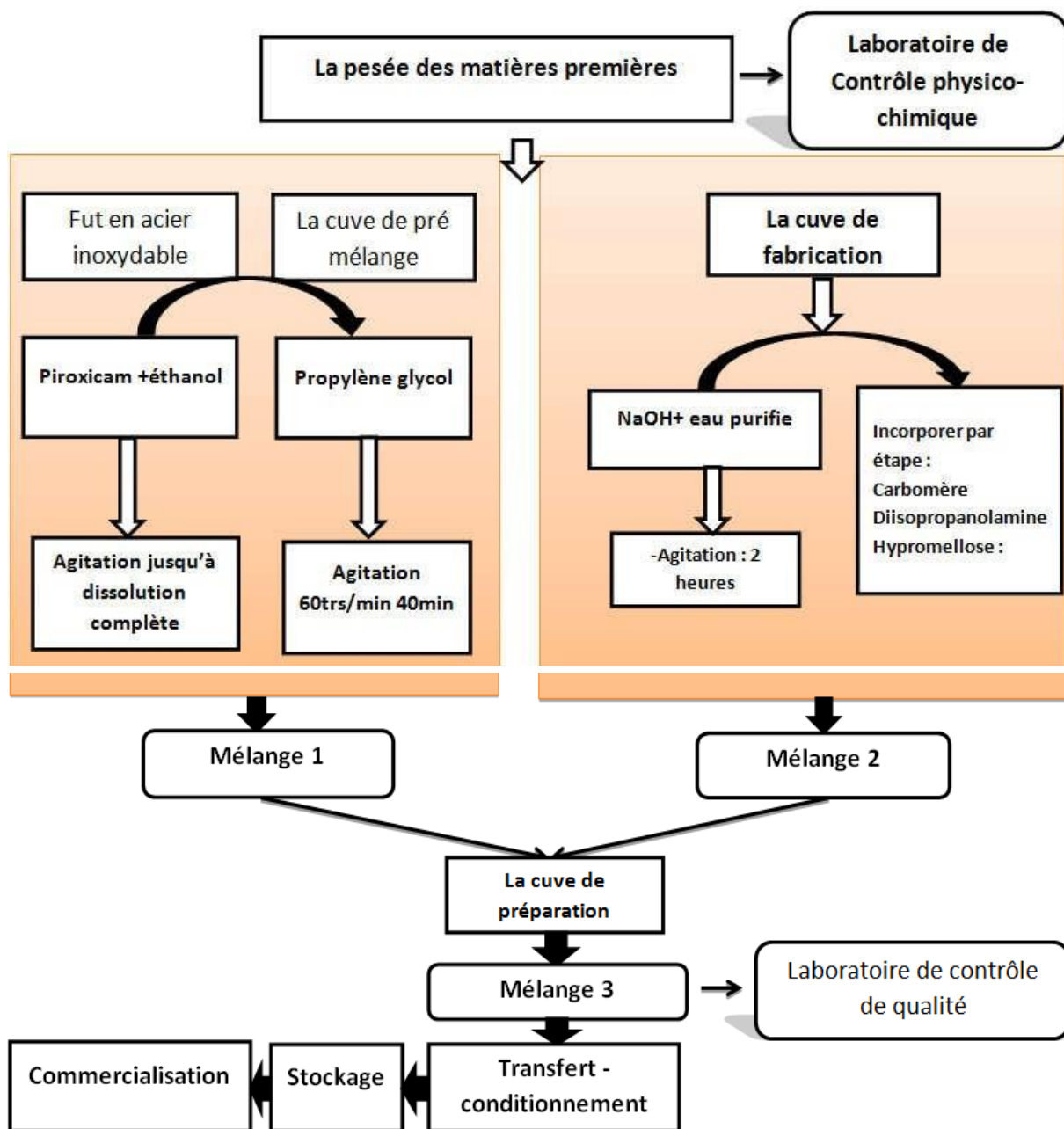


Figure 2.1. Illustration résumant les étapes de production de PRIXAM® (Originale, 2018).

2.2. Contrôle organoleptiques et physico-chimique du principe actif et des excipients

Concernant les excipients, nous avons réalisé les différentes analyses sur 3 ingrédients pharmaceutiques (parmi les 8 excipients) du gel PRIXAM

- ✓ Hydroxyde de sodium
- ✓ Propylène glycol
- ✓ Eau purifiée

Les excipients utilisés pour la préparation du gel PRIXAM® et leur rôle sont regroupés dans le tableau 2.1

Tableau 2.1. Composition du Prixam[®] et rôle des excipients utilisés.

Excipients	Rôle
Diisopropanolamine	Stabilisateur
Ethanol 96%	Solvant
Propylène glycol	Co-solvant
Hypromellose	Emulsifiant
Alcool benzylique	Conservateur
Hydroxyde de sodium	Augmenter le volume de pH
Carbomère 940	Agent gélifiant
Eau purifiée	homogénéisation

2.2.1. Principe actif

2.2.1.1. Contrôle organoleptique : Le contrôle organoleptique est un examen macroscopique concernant essentiellement l'aspect et la couleur (**Wherlé, 2007**).

- **Aspect :** Poudre cristalline blanche ou légèrement jaune. L'aspect de la poudre de Piroxicam est estimé visuellement.

- **Solubilité**

Principe : La solubilité d'un composé à une température donnée, est le nombre maximal de moles que l'on peut dissoudre dans un litre de solution. Elle peut être également exprimée comme étant la quantité maximale de substance que l'on peut dissoudre à une température donnée (**Mathieu et Fonrteneau, 2008**).

Le Piroxicam est pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans le chlorure de méthylène et peu soluble dans l'éthanol anhydre.

Lecture : Par une évaluation visuelle, on détermine la solubilité.

Le volume de solvant à prendre est présenté dans le tableau 2.2 : échelle exprimant la solubilité d'une substance.

Tableau 2.2. Echelle exprimant la solubilité d'une substance (**Ph. Eur., 2014**)

Termes descriptifs	Volumes approximatifs de solvant en ml/g de substance
Très soluble	<1
Facilement soluble	De 1 à 10
Soluble	De 10 à 30
Assez soluble	De 30 à 100
Peu soluble	De 100 à 1000
Très peu soluble	De 1000 à 10000
Pratiquement insoluble	De 10000

2.2.1.2. Contrôle physico-chimique du principe actif

■ Cendres sulfuriques

Principe : Cette recherche met en évidence la quantité de matières premières minérales contenues dans une substance organique (**Ph. Eur., 2014**).

Mode opératoire

Un creuset vide a été séché dans un four à moufle (600°C) pendant 10 min, après le refroidissement, le creuset a été pesé (Pv), ensuite 1 g de Piroxicam a été introduit dans le creuset et pesé (Pe), la substance a été humectée par 1 ml d'acide sulfurique ; le creuset a été transféré sur plaque chauffante jusqu'à calcination et jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches, puis a été transféré dans le four à moufle pendant 1h à 600°C , après ce temps le creuset a été refroidit et pesé pour la troisième fois (Pf).

Lecture et normes : Le calcul des cendres sulfuriques a été effectué selon la formule suivant :

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

- CS : cendre sulfurique
- Pv : poids du creuset vide (g)
- Pf : poids final (g)
- Pe : poids de pris d'essai (g)

Principe actif	Norme : cendres sulfuriques (Ph. Eur2014)
Piroxicam	≤ 0,1%

■ Perte à la dessiccation Principe

La perte à la dessiccation est la perte de masse à chaud exprimés en pourcentage. Elle correspond à une perte d'eau libre contenue dans le produit après évaporation (**Aiche et al., 2001**).

Mode opératoire : Un creuset vide a été séché et pesé (Pv), ensuite, 1 g de Piroxicam a été introduit dans le creuset et pesé (Pe) puis transféré dans l'étuve (105°C) sous vide pendant 4h ; après cette période le flacon a été pesé à nouveau pour enregistrer sa masse (Pf).

Lecture et normes : La perte à la dessiccation est donnée par une relation suivante :

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

- P(%) : Pourcentage de la perte à la dessiccation.
- Pv : Poids vide du creuset.
- Pe : Prise d'essai.
- Pf : Poids final du creuset.

Principe actif	Norme : perte à la dessiccation (Ph. Eur2014)
Piroxicam	≤ 0,5 %

■ Identification par Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge

Principe : L'identification du principe actif a été effectuée par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge et ce, dans le but d'assurer que la matière première testée correspond au principe actif spécifié par le fabricant. L'adsorption d'un rayonnement infrarouge correspond à une interaction des photons avec la molécule ou avec les groupements fonctionnels de la molécule (Mayé, 2003).

Mode opératoire : Nous avons effectué la spectrophotométrie d'adsorption dans l'infrarouge (IR) sur un spectrophotomètre IR lié à un ordinateur. Mettre une petite quantité de matière première dans l'appareil de l'infrarouge.

Lecture : La pureté du principe actif a été comparée avec un standard de contrôle et de référence (SCR) pour l'identification des pics.

■ Essai : Substance apparentées

Principe : La chromatographie en HPLC est une technique de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules présentes dans un mélange, elle permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification (Morrison, 2014). Son principe repose sur la séparation de plusieurs composés dans un échantillon grâce à une colonne contenant du gel de silice, appelée phase stationnaire, par pompage d'un solvant, appelée phase mobile, à travers la colonne selon l'affinité unique de chaque composant existant entre la phase mobile et stationnaire. Les composés migrent le long de la colonne à différentes vitesses et ressortent à différents temps, établissant ainsi une séparation du mélange. Les composés qui ont une grande affinité envers la phase mobile migrent plus rapidement vers le bas de la colonne, tandis que ceux qui ont une grande affinité envers la phase stationnaire migrent lentement (Shen et Smith, 2008).

Mode opératoire

La préparation des solutions sont résumé dans le tableau 2.3.

Tableau 2.3. Préparation des solutions pour chromatographie HPLC.

Solution à examiner	dissoudre 75 mg de Piroxicam dans l'acétonitrile R1, en chauffant légèrement si nécessaire, et compléter à 50 ml avec le même solvant.
Solution témoin (a)	dissoudre 7 mg de Piroxicam pour conformité du système SCR (contenant les impuretés A, B, G et J) dans de l'acétonitrile R1 et complétez à 5 ml avec le même solvant.
Solution témoin (b)	prélever 1 ml de solution à examiner et complétez à 50 ml avec de l'acétonitrile R1 ; prélever 1 ml de cette solution et complétez à 50 mL avec de l'acétonitrile R1.
Phase mobile	mélanger 30 volumes d'acétonitrile R1 et 70 volumes d'une solution de phosphate mono-potassique R à 6,81 g/L préalablement ajustée à pH 3,0 avec l'acide phosphorique R.

Dosage : consiste à injecter la solution à examiner et solution témoin

Lecture :

- impuretés A, B, C, D, E F, G, H, I, J, K et L : pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,2%)
- total : au maximum 2 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,4 %)

■ Dosage du principe actif

Principe : Le test du dosage permet de s'assurer que la quantité moyenne du principe actif déterminée dans Prixam[®] se trouve dans les limites de concentrations exigées par la **Pharmacopée Européenne (2014)**.

Mode Opératoire : Dissoudre 0,250 g de Piroxicam dans 60 ml d'un mélange à volume égaux d'anhydride acétique R et d'acide acétique anhydre R puis titrer par l'acide perchlorique 0,1 M. Déterminer le point de fin de titrage par potentiomètre.

2.2.2. Excipient n° 2 : Hydroxyde de sodium

2.2.2.1. Contrôle organoleptique

Aspect : l'aspect de la poudre d'hydroxyde de sodium est estimé visuellement. Ce sont des masses cristallines, blanches ou sensiblement blanches, présentées sous forme de pastilles, de cylindres ou de plaques, déliquescentes, absorbant facilement le dioxyde de carbone

Solubilité : très soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol à 96 pour cent.

2.2.2.2. Contrôle physicochimique

■ Détermination du pH

Principe : C'est le nombre qui représente conventionnellement la concentration aux ions hydrogène d'une solution aqueuse. Pour des raisons pratiques la définition expérimentale du pH d'une solution à examiner s'exprime par rapport à celui d'une référence (**Gavrilovic, 1996**).

Mode opératoire : Dissoudre 0,1 g d'hydroxyde de sodium dans 10 ml de l'eau, prélever 1 ml de solution et compléter à 100 ml avec de l'eau puis transférer la solution obtenus dans un bécher et plonger la cellule de mesure de pH mètre dans la solution.

Lecture : Lire la valeur de pH sur l'écran de l'appareil. Selon la **Ph. Eur. (2014)** elle est au minimum égale à 11,0.

Préparation de la solution S

Dissoudre 5 g d'hydroxyde de sodium dans 12 ml d'eau R, Ajouter 17 ml d'acide chlorhydrique R1, ajuster à pH 7 avec une solution d'acide chlorhydrique R à 103 g/l et compléter à 50 ml avec de l'eau R. Prélever 2ml de cette solution S.

Ajouter 2 ml d'une solution de carbonate de potassium R à 150g/l et chauffer à ébullition. il ne se forme aucun précipité, ajouter 4ml de pyroantimoniate de potassium R et chauffer à ébullition. Laisser refroidir dans l'eau glacée et frotter si nécessaire la paroi du tube avec une baguette de verre.

Lecture : Selon la **Ph. Eur. (2014)**, formation d'un précipité blanc et dense.

Aspect de la solution :

Dissoudre 1,0 g d'hydroxyde de sodium dans 10 ml d'eau R.

Lecture : Selon **Ph. Eur(2014)**, la solution est limpide et incolore.

■ Recherche des Chlorures

Mode opératoire

Préparation de la solution A Dissoudre 0,25 g d'hydroxyde de sodium dans 5 ml d'eau R et acidifier la solution avec environ 4 ml d'acide nitrique R. Compléter à 15 ml avec de l'eau purifiée.

Préparation de la solution à examiner	Préparation du témoin
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Prélever 15 ml de la solution A, ✓ ajouter 1 ml d'acide nitrique diluée R et verser ce mélange en une seule fois dans un tube à essai contenant 1 ml de solution de nitrate d'argent R2. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ dans un tube à essai contenant 1 ml de solution de nitrate d'argent R2 ajouter 1 ml d'acide nitrique diluée R. ✓ utiliser un mélange de 10 ml de solution à 5 ppm de chlorure (Cl) R et de 5 ml d'eau R.

Lecture : Après 5 min à l'abri de la lumière, la solution d'essai examiner n'est pas plus intense que celle du témoin.

Recherche de Fer

Mode opératoire

Préparation de la Solution à examiner	Préparation du témoin
<ul style="list-style-type: none"> ✓ utiliser 10 ml de la solution prescrite (solution S). ✓ Ajouter 2ml d'une solution d'acide citrique R à 200g/l et de 0,1ml d'acide Thioglycolique. ✓ Mélanger, alcaliniser avec de l'ammoniaque R et compléter à 20ml avec de l'eau R. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ dans un tube à essai ajouter 2 ml d'acide citrique R à 200g/l et de 0,1ml d'acide Thioglycolique ✓ utiliser 10ml de solution à 1 ppm de fer(Fe) R. ✓ Mélanger, alcaliniser avec de l'ammoniaque R et compléter à 20ml avec de l'eau R.

Lecture : Après 5min à l'abri de la lumière, La coloration rose de la solution à examiner n'est pas

plus intense que celle du témoin.

■ Recherche des Sulfates

Mode opératoire :

Préparation de la solution à examiner	Préparation du témoin
✓ Dissoudre 0,75 g d'hydroxyde de sodium dans 6 ml d'eau distillée R et ajuster à pH 7 avec de l'acide chlorhydrique R. Compléter à 15 ml avec de l'eau distillée R (solution M)	✓ A 4,5 ml de solution à 10 ppm de sulfate (SO ₄) R1, ajouter 3 ml d'une solution de chlorure de baryum R à 250 g/l.
✓ A 4,5 ml de solution à 10 ppm de sulfate (SO ₄) R1, ajouter 3 ml d'une solution de chlorure de baryum R à 250 g/l.	✓ Agiter et laisser reposer pendant 1 min.
✓ Agiter et laisser reposer pendant 1 min.	✓ Prélever 2,5 ml de cette solution et ajouter 15 ml de la solution de sulfate à 10 ppm et 0,5 ml d'acide acétique R.
✓ Prélever 2,5 ml de cette solution et ajouter 15 ml de la solution M et 0,5 ml d'acide acétique R.	

Lecture : Après 5min à l'abri de la lumière, La solution à examiner présente une opalescence, celle-ci n'est plus prononcée que celle du témoin.

Dosage

Principe : Le terme dosage colorimétrique se rapporte à l'analyse chimique quantitative basée sur la détermination du volume d'une solution de concentration connue avec une précision qui est nécessaire pour réagir quantitativement avec un volume donné d'une solution de substance analysée (**Mendhan, barnes, 2006**).

Mode opératoire : Dissoudre 2,000 g d'hydroxyde de sodium dans environ 80 ml d'eau exempte de dioxyde de carbone R et titrer par l'acide chlorhydrique 1 M en présence de 0,3 ml de solution de phénolphthaléine R. Ajouter ensuite 0,3 ml de solution de méthylorange R et continuer le titrage par l'acide chlorhydrique 1 M.

Lecture : Selon la **Ph. Eur. (2014)**, lire le volume de réactif titrant jusqu'au le virage de l'indicateur au jaune.

2.2.3. Excipient n° 2 : Propylène glycol

2.2.3.1. Contrôle organoleptiques

■ **Aspect :** L'aspect du propylène glycol a été vérifié à l'œil nu. C'est un liquide visqueux, limpide, incolore, hygroscopique.

■ **Solubilité :** miscible à l'eau et à l'éthanol à 96 %.

2.2.3.2. Contrôle physico chimique

■ Densité Principe

La mesure de la densité ou la masse volumique s'effectue avec le nombre de décimales prescrit la monographie, à l'aide d'un pycnomètre (solide ou liquide), d'une balance analytique.

Mode opératoire : Rincer le pycnomètre à l'eau distillée, le sécher à l'étuve à 110°C le laisser 15 minute au dessiccateur, déterminer le poids de pycnomètre vide, introduire de l'eau purifiée, puis pesé, rincer une deuxième fois le pycnomètre et le mettre à l'étuve, le mettre à nouveau au dessiccateur pendant 15 minute, introduire la solution à examiner et peser.

Lecture : La densité est déterminée par la formule suivante :

$$D = \frac{P_p - P_v}{P_e - P_v}$$

- D : la densité ;
- P_p : poids du pycnomètre rempli de substance à examiner en gramme ;
- P_v : poids du pycnomètre vide en gramme ;
- P_e : poids du pycnomètre rempli de l'eau purifiée en gramme ;

■ Acidité

Mode opératoire : Dans un erlenmeyer introduire 10 ml de propylène glycol et ajouter 40 ml d'eau R et 0,1 ml de la solution de bleu de bromothymol R1. La solution est colorée en jaune verdâtre. Le mélange de solvants utilisé a été neutralisé par hydroxyde de sodium (NaOH).

Lecture : Selon la **Ph. Eur. (2014)** le titrage est terminé lorsque la couleur bleu prescrite est apparue après 15 secondes.

■ Substances oxydantes

Mode opératoire : Dans un ballon à bouchon rodé, introduire 10 ml de propylène glycol ,5 ml d'eau R, 2 ml de solution d'iodure de potassium R et 2 ml d'acide sulfurique dilué R. Laisser reposer à l'abri de la lumière pendant 15 min. Titrez par le thiosulfate de sodium 0,05 M utilisé n'est pas supérieur à 0,2 ml.

Lecture : La solution reste incolore ce qui confirme l'absence des substances oxydables.

■ Substances réductrices

Mode opératoire : Chauffer au bain-marie à 60°C pendant 5 min un mélange de 1 ml de propylène glycol et de 1ml d'ammoniaque diluée R1. La solution n'est pas colorée en jaune. Ajouter immédiatement 0,15 ml de nitrate d'argent 0,1M et laisser reposer pendant 5min.

Lecture : Selon la **Ph. Eur. (2014)**, la solution ne présente aucune modification.

■ Teneur en eau

Mode opératoire : La détermination de la teneur en eau est nécessaire pour mesurer la quantité d'eau incluse pour ce faire, 5 ml de propylène glycol ont été introduits dans un godet puis le dosage se fait automatiquement par le titrateur. La teneur en eau a été affichée sur Karl Fischer (KF).

Lecture : Le résultat de la teneur en eau doit être $\leq 2 \%$.

■ Cendres sulfuriques

Mode opératoire : Un creuset vide a été séché dans un four à moufle (600°C) pendant 10 min, après le refroidissement, le creuset a été pesé (Pv) ; ensuite 0,5g de propylène glycol a été introduit dans le creuset et pesé (Pe) ; la substance a été humectée par 1 ml d'acide sulfurique, le creuset a été transféré sur plaque chauffante jusqu'à calcination et jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches, puis a été transféré dans le four à moufle pendant 1h, après ce temps le creuset a été refroidit et pesé pour la troisième fois (Pf).

2.2.4. Excipient n° 3 : Eau purifiée

L'échantillon d'eau purifiée a été prélevé dans des flacons stériles à partir de la station de traitement des eaux ; trois tests ont été entrepris pour vérifier qu'elle est exempte de nitrate, de substance oxydable et de métaux lourds

2.2.4.1. Contrôle physicochimique

■ Recherche des substances oxydantes

Principe : Les substances oxydantes sont des substances très réactives, leur analyse s'effectue sur 100 ml d'eau purifiée en milieu acide, en présence de permanganate de potassium (**Pradeau, 1992**).

Mode opératoire : 100 ml d'eau purifiée ont été mélangés avec 10 ml d'acide sulfurique dilué (0.01M) et 0.1 ml de permanganate de potassium (0.02 M). Le mélange obtenu a été chauffé à ébullition pendant 5 min.

Lecture : Vérifier la coloration de la solution qui doit rester légèrement colorée en rose

■ Recherche des nitrates

Principe : Elle se fait par colorimétrie après l'ajout d'une solution de diphénylamine (**Ph.**

Eur., 2014). **Mode opératoire :**

Préparation de la solution à examiner	Préparation du témoin
Dans un tube à essai placé dans de l'eau glacé ; introduire 5 ml d'eau purifiée et 0.4 ml d'une solution de chlorure de potassium R à 100 g/l. Ajouter 0.1 ml de solution de diphénylamine et 5 ml d'acide sulfurique exempte d'azote ; Placer le tube dans un bain-marie à 50°C.	5 ml de l'eau purifiée ont été mélangés avec : - 0.5 ml de solution à 2 ppm de nitrate, - 0.4 ml d'une solution de chlorure de potassium à 100g/l - 0.1 ml de solution de diphénylamine.

Lecture : Après 15 min, La solution témoin doit être d'une couleur bleu plus intense que la solution à examiner.

■ Recherche de métaux lourds

Mode opératoire : Le contrôle de la présence des métaux lourds dans l'eau purifiée nécessite la préparation des trois solutions.

Préparation de la solution S : Chauffer au bain marie 200 ml d'eau purifiée dans une capsule de verre, jusqu'à réduction du volume à 20 ml.

Solution à examiner	Témoin	Blanc
Introduire 12 ml de la solution S dans un tube à essai	Mélanger 2 ml de la solution S avec 10 ml de solution à 1 ppm de plomb et 0,075 ml d'acide nitrique 0,1 M	Mélanger 2 ml de la solution S avec 0,075 ml d'acide nitrique 0,1 M
à chaque solution ajouter 2 ml d'une solution tampon pH= 3.5		
Mélanger et ajouter à 1.2 ml de réactif au Thio acétamide R.		
Puis mélanger immédiatement		

Lecture : Après 2 min, la couleur de la solution à examiner doit être brune et moins intense que le blanc et le témoin.

2.3. Contrôle organoleptique et physico-chimique des produits intermédiaire et fini

2.3.1. Contrôle de produit intermédiaire

231.1. Contrôle organoleptique

■ **Aspect :** Gel hydrophile, homogène, translucide

231.2. Contrôle physico chimique

■ Dosage par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultra-violet

Principe : La spectroscopie UV est un procédé de dosage qu'une méthode de détermination de structure. Le rayonnement ultraviolet est un rayonnement très énergétique, de courte longueur d'onde. Le rayonnement UV est capable d'induire le passage d'un électron d'une orbitale liante dans une orbitale anti liante. Les absorptions UV d'une molécule sont définies par deux paramètres :
 λ_{max} : longueur d'onde d'absorption maximum qui indique la position de l'absorption dans l'échelle des longueurs d'onde (**Galons, 2007**).

ϵ : Coefficient d'absorption moléculaire qui représente l'intensité de l'absorption mesurée à λ_{max}

Mode opératoire : Préparation de l'acide chlorhydrique méthanolique 0,01N :

Dans une fiole de 100 ml, introduire 0,43 ml d'acide chlorhydrique, ajouter 4ml d'eau distillée et compléter au volume avec du méthanol. Introduire 20 ml de cette solution dans une fiole de 1000 ml et compléter au volume avec du méthanol.

La préparation des deux solutions témoin et l'essai sont regroupés dans le tableau 2.4.

Tableau 2.4. Etapes de préparation de la solution témoin et l'essai.

Solution témoin	Solution essai
Dans une fiole de 250 ml, introduire 50 mg de piroxicam matière première dessécher au préalable à 105 °C pendant 03 heures et compléter au volume avec l'acide chlorhydrique méthanolique 0,01 N (solutions s).	Dans une fiole de 200 ml, introduire 2 g de gel l'équivalent de 10 mg en piroxicam et compléter au volume avec l'acide chlorhydrique méthanolique 0,01 N ; agiter mécaniquement pendant 30 minutes puis centrifuger 40ml de ce mélange. Dans une fiole de 50 ml, introduire 5 ml de surnageant et compléter au volume avec l'acide chlorhydrique méthanolique 0,01N
Dans une fiole de 200 ml introduire 5 ml de la solution S et compléter au volume avec l'acide chlorhydrique méthanolique 0,01 N.	

Lecture : Lire la densité optique de chaque solution préparée au spectrophotomètre d'absorption à la longueur d'onde $\lambda=334$ nm, en utilisant comme blanc de l'eau purifiée à une solution

Calcul :

$$T\% = \frac{DOE}{DOT} \times \frac{PeT}{PeE} \times \frac{1}{5}$$

Avec : T% : titre de Piroxicam dans le produit fini (%)

- DOE : densité optique de l'essai
- DOT : densité optique du témoin
- PeT : prise d'essai du témoin exprimée en mg
- PeE : prise d'essai exprimée en mg

Lecture : Normes recommandées par la **Pharmacopée Européenne (2014)** = 0,475% à 0,525%

2.3.2. Contrôle de produit fini

2.3.2.1. Contrôle organoleptique

■ **Aspect :** Gel hydrophile, homogène, translucide

2.3.2.2. Contrôle physico chimique

■ Masse délivrable

Vider un tube aussi complètement que possible et déterminer la masse de son contenu.

La masse obtenue n'est pas inférieure à la valeur nominale, soit 50 g.

■ Détermination du pH

- Verser 10 mg du produit fini Prixam[®] dans un bêcher contenant 100 ml de l'eau purifié ;
- Rincer soigneusement l'électrode du pH-mètre avec de l'eau distillé ;
- Laisser l'électrode en contact avec la solution du Prixam[®] ;
- Rincer l'électrode avec l'eau R après son utilisation.

Lecture : lire la valeur du pH affichée sur l'écran de pH-mètre qui doit être incluse entre 7,2 à 8,2.

■ Dosage par Chromatographie Liquide à Haute Performance :

Principe : Ce dosage a pour but de vérifier la concentration de l'impureté (2- pyridylamine) qui doit être en conformité avec les normes pour ne pas dégrader le principe actif (Piroxicam) (**Pharmacopée Européenne, 2014**).

Mode opératoire : Opérer par chromatographie liquide en utilisant les solutions suivantes : qui sont données dans le tableau 2.5.

Tableau 2.5. Préparation des solutions.

Solution à examiner	Ajouter 5 ml d'acide chlorhydrique méthanolique 0,01 M à une quantité de gel correspondant à 5mg de piroxicam .agiter doucement pendant 30 minutes ; ajouter 50 ml de phase mobile et agiter vigoureusement pendant 30minutes. Compléter à 100 ml avec la phase mobile, mélanger et filtrer sur une membrane filtrante en fibre de verre (1µm)
Solution témoin	prélever 5 volumes d'une solution de 2- pyridylamine à 0 ,00050% m/v dans l'acide chlorhydrique méthanolique 0,01 M. diluer et complétez à 100 volumes avec la phase mobile.

Lecture : S'il apparaît, dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, un pic correspondant à 2- pyridylamine, sa surface n'est pas supérieure à celle du pic principal dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (0,5 %).

2.4. Contrôle microbiologique :

2.4.1. Contrôle microbiologique de l'eau purifiée

Mode opératoire : La méthode de contrôle a été effectuée par filtration à travers une membrane de nitrate de cellulose (0.45µm), liée à une rampe de filtration. Les manipulations ont été réalisées sous hotte à flux laminaire équipée d'un bec bunsen. La rampe a été stérilisé par flambage, puis le filtre a été retiré délicatement de son emballage avec la pince et a été placé dans la rampe.

Ensuite 10 ml de l'échantillon d'eau purifiée a été déposé sur le filtre. L'eau est filtrée à l'aide d'une pompe aspirante pendant 5 min puis retirée le filtre avec la pince et déposée sur deux boîtes de Pétri contenant le milieu R2A. L'incubation a été faite à 33°C pendant 5 jours.

Lecture : La lecture est faite à l'aide du compteur de colonies et les résultats sont exprimés en UFC/10 ml.

2.4.2. Contrôle microbiologique de produit finis :

Le contrôle microbiologique des substances testées est effectué selon les méthodes mentionnées dans la pharmacopée européenne (2014). Ces méthodes consistent à la détermination des germes aérobies totaux (bactéries, moisissures et levures), et la recherche de microorganismes spécifiques (*Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*).

2.4.2.1. Dénombrement des germes aérobies totaux et des moisissures et levures totales

Plusieurs méthodes de culture sur boîte sont utilisables pour dénombrer les cellules viables dans un échantillon. On les désigne comme les méthodes de comptage viable parce qu'elles ne comptent que les cellules vivantes et susceptibles de se proliférer. Les deux techniques régulièrement utilisées sont celle de l'étalement en surface et celle de l'ensemencement en profondeur (Prescott *et al.*, 2010).

Préparation des dilutions :

- **Dilution 10^{-1}** : 10 g de Prixam[®] ont été dissous dans 90 ml de la solution tampon Solution peptonée au chlorure de sodium, pH 7.0. Ce qui correspond à la dilution 10^{-1} (solution A). On effectue la dilution (10^{-2}).
- **Dilution 10^{-2}** : On prend 1 ml à partir de la solution A et on le met dans un tube contenant 9 ml de la même solution tampon utilisée pour la dilution 10^{-1} .

Remarque : (On utilise 2 boîtes de Pétri pour chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2})).

■ Recherche des bactéries viables totales

On introduit dans chaque boîte de Pétri 1 ml de la dilution concernée, puis on ajoute 20 ml d'un milieu gélose liquéfié à base de peptones de caséine de Soja (TSA). Par la suite, on agite doucement les boîtes par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'échantillon et la gélose sans faire de bulles et sans mouiller les couvercles des boîtes.

On incube à l'étuve à une température de 30 à 35°C pendant 3-5 jours (Figure 2.2).

■ Dénombrement des levures et moisissures

Il se fait de la même manière que les bactéries viables totales sauf qu'on remplace le milieu gélose liquéfié à base de peptones de caséine de Soja par un milieu gélose liquéfié Sabouraud-glucose. Par la suite, on incube à l'étuve à une température de 20-25°C pendant 5-7 jours.

Lecture : Après la période d'incubation, la lecture des résultats de dénombrement des germes aérobies viables totaux, des levures et des moisissures a été effectuée par un comptage des colonies.

2.4.2.2. Recherche des bactéries spécifiques

■ **Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*** : 10 ml de solution A ont été transférés dans 100 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et du soja (TSB) et incubés à 30-35°C pendant 18h à 24 h, après ce temps, 0.1 ml a été ensemencé sur des boîtes de pétri contenant le milieu gélosé Cétrimide. L'incubation a été réalisée à 30 à 35°C pendant 18-72 h (Figure 2.3).

■ **Recherche de *Staphylococcus aureus*** 10 ml de la solution A ont été transférés dans 100 ml du milieu TSB l'incubation a été réalisée à 30-35 °C pendant 18h à 24 h. Après cette période, 0.1 ml a été ensemencé sur des boîtes de pétri contenant le milieu gélosé mannitol sel. L'incubation a été faite à 30 à 35°C pendant 18-72 h (Figure 2.3).

Lecture : La lecture des résultats de la recherche des germes spécifiques a été effectuée par l'observation à l'œil nu puis confirmée par des tests d'identification.

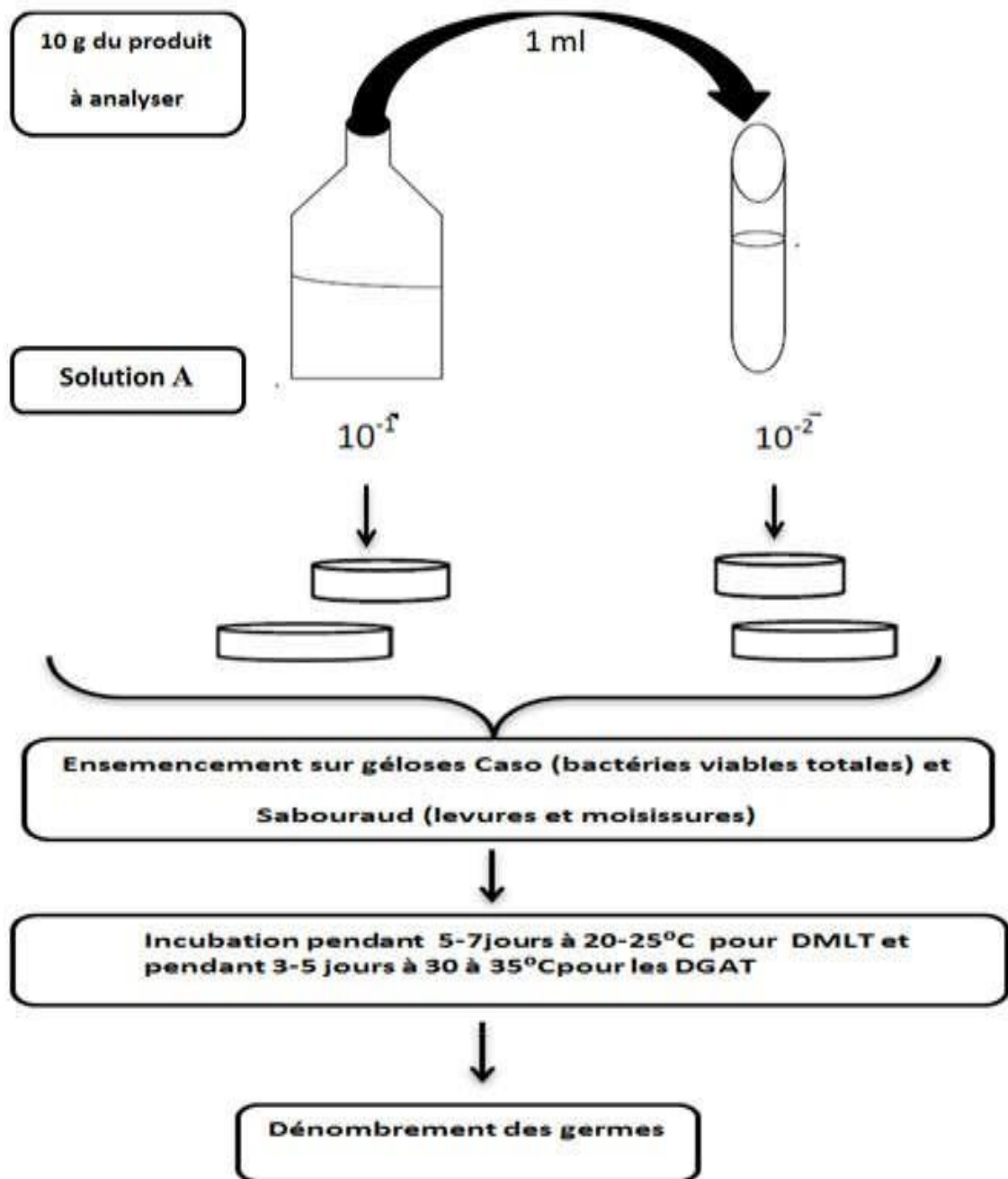


Figure 2.2 : Schéma décrivant les étapes réalisées pour le dénombrement des germes aérobies totaux des levures et moisissures (Ph. Eur., 2014).

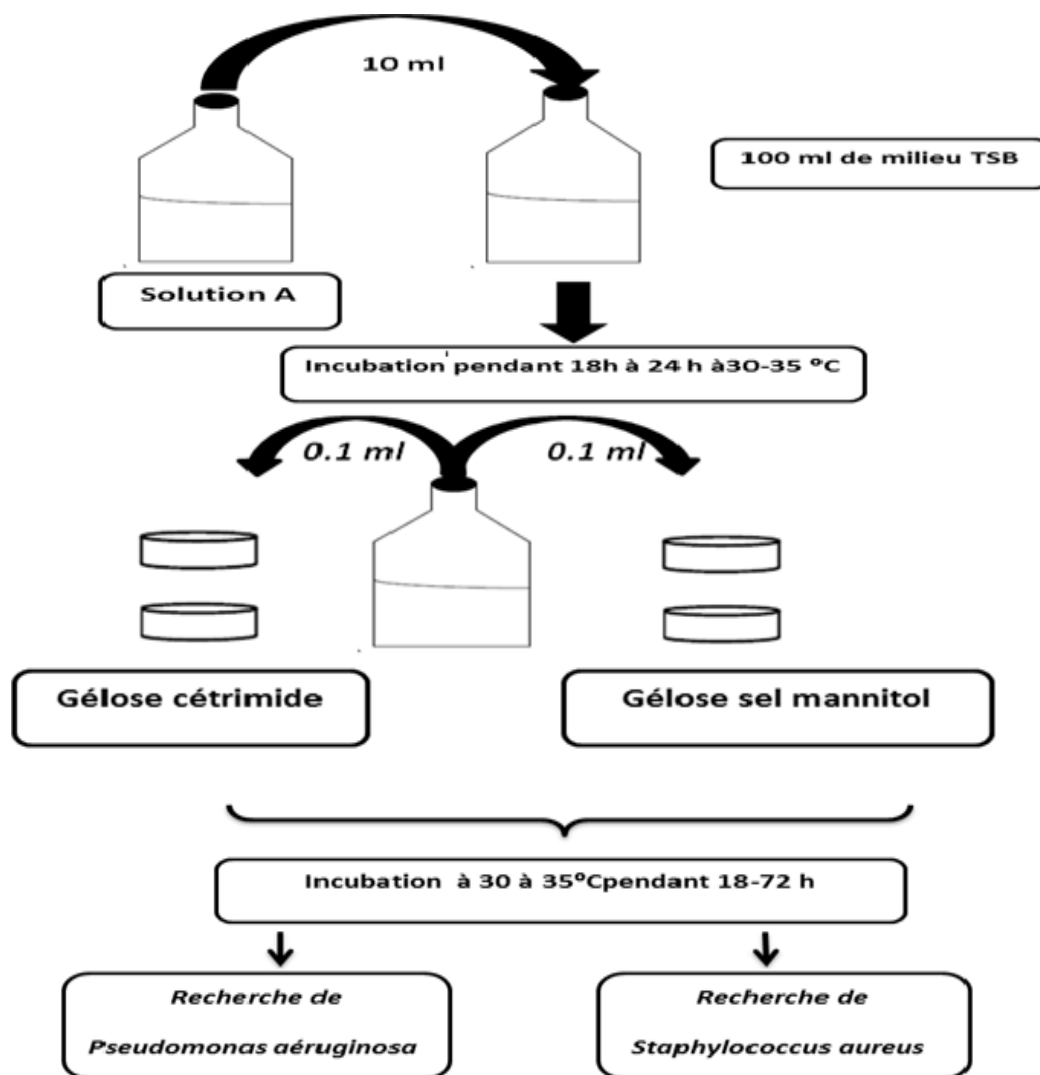


Figure 2.3 : Schéma décrivant les étapes réalisées pour la recherche de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Ph. Eur., 2014).

Les limites d'acceptation : Les limites d'acceptation prescrites dans la Pharmacopée Européenne (2014), sont données dans le tableau n° 2.6.

Tableau 2.6. Limites d'acceptation.

Tests	Normes (Ph. Eur., 2014)
Dénombrement des germes aérobies viables totaux (UFC/g)	au max 2×10^2
Dénombrement des moisissures et levures totaux (UFC/g)	au max 2×10^1
Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	Absence
Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence

2.5. Préparation du gel excipient

Les gels sont des préparations constituées par des liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés. Les Hydrogels ou gels hydrophiles sont les plus fréquents. Les principaux composants sont représentés par des solvants hydrophiles (eau, glycérol, propylène glycol) et agents épaississants et/ou gélifiants (gomme adragante, alginates, dérivés cellulosiques, polymères carboxyvinyliques).

Quelques excipients utilisés lors de formulations de gels et leur rôle ont été consignés dans le tableau 2.7

Dans notre étude, nous avons préparé un gel (sans PA) avec un agent gélifiant : Carbopol 940 (Tableau 2.8).

Tableau 2.7. Quelques Excipients utilisés pour la préparation des hydrogels cutanés.

Ingrédients	Caractères	Propriétés
Glycérine	Liquide sirupeux, onctueux, incolore, limpide et très hygroscopique,	Elle prolonge l'hydratation de la peau. Adoucissant et améliore l'élasticité.
Ethanol pur (98°)	Liquide transparent, avec odeur caractéristique.	Un bon solvant des graisses et il dissout de nombreuses matières.
Propylène glycol	Liquide incolore, légèrement visqueux, peu volatil et inodore. Très hygroscopique, miscible à l'eau et aux solvants organiques.	Propriétés émulsifiantes reconnues. Utilisé comme humectant, solvant et conservateur. Agent d'entretien de la peau.
Kathon CG	Liquide transparent et limpide, sans odeur.	Agent de contrôle de la viscosité. Conservateur antimicrobien utilisé dans des savons, nettoyants, crèmes de protection. Utilisé pour prévenir l'apparition de la résistance bactérienne

Tableau 2.8. Composition du gel aqueux préparé sans principe actif.

Ingrédients		Gel au Carbopol
Nom commercial	INCI	Gel n° 1
Eau distillée (mL)	Aqua	520
Carbomère (g)	Carbopol 940	2.05
Trolamine (µL)	Triethanolamine	50
Glycérine (g)	Glycerin	26.13
Ethanol pur (g)	Alcohol	12.83
Propylène Glycol (g)	Monopropylene glycol	21.01
Kathon CG (µL)	Benzisothiazolinone	60

INCI : International Nomenclature Cosmetic Ingredients

Au niveau de la mise en œuvre de la fabrication d'un gel, deux étapes peuvent être critiques si elles ne sont pas bien maîtrisées. La première étape consiste en l'hydratation du gélifiant (Carbomère) qui permet le passage de l'état poudre, où la structure se trouve sous une forme enroulée très serrée de faible volume, à l'état hydrate, où le polymère commence progressivement à se dérouler et prendre du volume. Durant cette étape, le gélifiant va devenir de plus en plus sensible aux contraintes mécaniques. La deuxième étape consiste en la neutralisation (étape de gélification) qui permet de former des charges négatives le long de la chaîne et, qui provoquent des forces répulsives et continuent à dérouler la structure du polymère avec augmentation de volume et de viscosité.

1. Dans un bécher de 250 mL, nous avons pesé une certaine quantité d'eau distillée. Par la suite, nous avons incorporé lentement la poudre de gélifiant (Caropol 940) par petites doses afin d'éviter la formation des grumeaux sous faible agitation. Puis nous avons mélangé avec un agitateur mécanique (mixeur) jusqu'à dissolution totale du gélifiant et on laisse reposer. La solution a alors un pH acide (3).
2. Nous avons incorporé ensuite très lentement la base (TEA) avec une micropipette tout en mélangeant. On obtient alors un hydrogel transparent, de pH neutre (6), avec des petites bulles qui (gel au Carbopol). L'hélice du mixeur doit être immergée afin d'éviter la formation de bulles.
3. Par la suite, nous avons additionné, à l'hydrogel, les autres solvants organiques (propylène glycol et éthanol) sous agitation continue.
4. L'incorporation du conservateur (Kathon CG) se fera à la fin de la préparation tout en homogénéisant l'hydrogel pour une meilleure dispersion des additifs.
5. Le gel aqueux préparé sera conditionnés dans des pots stériles fermés et à l'abri de la lumière.

2.5.1. Contrôle physico chimique et microbiologique du gel excipient (sans PA)

2.5.1.1. Contrôle physico chimique

■ Détermination du pH

- ✓ Verser une prise d'essai du gel préparé dans un bécher
- ✓ Rincer soigneusement l'électrode du pH-mètre avec de l'eau distillé
- ✓ Laisser l'électrode en contact avec la prise d'essai du gel
- ✓ Rincer l'électrode avec l'eau R après son utilisation.

Lecture: Lire la valeur du pH affichée sur l'écran de pH-mètre.

2.5.1.2. Contrôle microbiologique

Une fois préparé le gel, hydrophile sans PA a fait l'objet un contrôle de qualité microbiologique a été effectuée selon le mode opératoire cité précédemment pour le médicament Prixam® (Ph. Eur, 2014).

2.6. Etude de l'activité anti-inflammatoire

Principe : L'activité anti-inflammatoire topique du gel a été évaluée in vivo sur des souris NMRI. L'œdème a été induit, au niveau de l'oreille gauche de chaque souris, par application d'une solution

irritante de xylène à 0.3% comme agent phlogogène (irritant) (ou encore l'huile de croton diluée dans l'acétone). L'oreille droite servait de témoin. La méthodologie suivie est celle décrite par **Sosa et al. (2005)** et **Al-Reza et al. (2010)**.

■ Protocole expérimental

Nous avons utilisé trois lots contenant chacun 5 souris (des souris albinos de race Swiss). Les différents traitements ont été administrés aux souris par voie topique (application cutanée au niveau de l'oreille gauche).

Le premier lot (témoin +) : recevra une quantité d'un gel dermique Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien (AINS) (SAIDAL), en l'occurrence le Prixam®

Le deuxième lot (témoin-) recevra une quantité d'un gel sans principe actif déjà préparé.

Après 30 minutes de l'application des traitements, l'inflammation cutanée est induite chez les 3 lots en appliquant une quantité de 10 µL du xylène sur la surface interne et externe de l'oreille gauche. L'oreille droite n'est pas traitée et sert de témoin.

Après l'écoulement d'un temps estimé à 4 heures les souris ont été sacrifiées par une forte dose de l'éther. A l'aide d'un perce-bouton, des pièces circulaires (diamètre 5 mm) ont été coupées et retirées des oreilles traitées (gauches) et non traitées (droites) puis pesé immédiatement. Ces pièces ont été conservées immédiatement dans du formol à 10%.

L'activité anti-inflammatoire est exprimée par le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport au contrôle négatif, selon la formule suivante :

$$\% \text{réduction de l'inflammation} = \frac{T - E}{T} \times 100$$

- T : Différence entre les moyennes du poids de l'oreille (G-D) pour le lot Contrôle – (gel sans principe actif)
- E : Différence entre les moyennes du poids de l'oreille (G-D) pour le lot essai (gel Prixam®)

Chapitre 3

RESULTATS et DISCUSSION

Tous les résultats obtenus ont été comparés avec les normes en vigueur de la Pharmacopée Européenne (2014) et dont les textes (les « monographies ») définissent des exigences de qualités générale ou spécifique auxquelles doivent satisfaire les substances pharmaceutiques qui composent les médicaments.

3.1. Résultats du contrôle organoleptique des matières premières

Les résultats de ce contrôle des matières premières sont présentés dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1. Résultats du contrôle organoleptique des matières premières.

Matières premières	Aspect	Solubilité	Conformité
Piroxicam	poudre cristalline	Pratiquement insoluble dans l'eau.	Conforme aux spécifications décrites dans Ph. Eur. (2014)
	blanche ou légèrement jaune	soluble dans le chlorure de méthylène. peu soluble dans l'éthanol anhydre	
Hydroxyde de sodium	blanches ou sensiblement blanches,	très soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol à 96 %	
	Masses cristallines présentées sous forme de pastilles, de cylindres ou de plaques, déliquescentes.		
Propylène glycol	incolore	miscible à l'eau et à l'éthanol à 96%.	
	Liquide visqueux et hygroscopique.		

Tous les résultats concernant l'aspect des matières premières sont conformes aux normes citées par la **Ph. Eur. (2014)**. Ces résultats nous permettent de déduire que les différentes matières analysées sont de bonnes qualités organoleptiques et que leurs conditions de conservations, de transport et de stockage ont été bien respectées et cela pourra être aussi la conséquence d'une bonne purification (**Pradeau, 1992**).

Les résultats de la solubilité s'accordent aux normes de la **Ph. Eur. (2014)**. Selon **Whrelé (2007)**, la solubilité est un critère de classification et de sélection des excipients et elle joue aussi un rôle prépondérant dans la préparation de nombreuses formes pharmaceutiques et est une importance primordiale pour la biodisponibilité des médicaments quel que soit la voie de pénétration dans l'organisme (**Le Hir, 2001**).

3.2. Résultat du contrôle physico chimique des matières premières

3.2.1. Résultat du contrôle physico chimique du principe actif (Piroxicam)

Les résultats obtenus du contrôle physico chimique de principe actif sont présente dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Résultats du contrôle physico-chimique du principe actif.

Tests	Résultats	Normes	Conformité
Identification : spectrophotométrie d'absorption IR	Identique au spectre de référence Piroxicam SCR	Identique au spectre de référence Piroxicam SCR	Conforme aux spécifications décrites dans Ph. Eur. (2014)
Substances apparentées par HPLC	-pour chaque impureté au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) : (0,10/ 0,11/ 0,05/ 0,06/ 0,10/ 0,05).	$\leq 0,2\%$	
	-au maximum 2 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) : (0,10+0,11+0,05+0,06+0,10+0,05)	$\leq 0,4\%$	
Perte à la dessiccation	0,029	$\leq 0,5 \%$	
Cendres sulfuriques	0.037%	$\leq 0,1\%$	
Dosage Potentiomètre	99.13	98.5-101	

Le taux de la perte à la dessiccation est de 0,029%. Le résultat de ce paramètre est conforme à la norme européenne ($\leq 0,5 \%$). L'intérêt de l'étude de la perte à la dessiccation permet d'étudier les conditions d'élimination de la totalité d'eau libre, sans toucher à la structure finale de la matière ; d'un autre coté, cette étude sert à limiter voire empêcher la prolifération microbienne (**Aiache et al., 2001**). Le faible taux de la perte à la dessiccation (%) indique une bonne déshydratation ainsi qu'une bonne conservation de Piroxicam.

Pour le taux des cendres sulfuriques, le résultat obtenu est de 0,037%. Ce taux est inférieur à la limite tolérée qui est de 0,1% (Figure 3.1).



Figure 3.1. Cendres sulfuriques (**Originale, 2018**).

Le faible taux des cendres sulfuriques met en évidence la quantité de matières minérales contenue dans une substance organique (**Pradeau, 1992**). Il nous permet de déduire que le Piroxicam ne contient pas d'impuretés minérales et de s'assurer l'absence d'effet toxique.

Le spectre du Piroxicam identifiés par infrarouge pour notre lot (figure 3.2) a été comparé avec le spectre du Standard de Contrôle et de Référence SCR (figure 3.3). Les résultats obtenus montrent que le spectre est superposable au spectre du standard. L'absorption d'un rayon infrarouge correspond à une interaction des photons avec la molécule ou un groupement fonctionnel de la molécule, ce qui provoque une transition entre les états de la molécule et l'énergie absorbée en fonction de la longueur d'onde donne un spectre caractéristique de la substance à analyser (**Gavrilovic et al., 1996**), ce qui prouve que le principe actif Piroxicam est pur et conforme aux normes de la **Ph. Eur (2014)**.

Le test de l'identification réalisée par HPLC ayant pour but de confirmer la pureté et déterminer la présence ou l'absence des substances chimiques (figure 3.4) qui entrent dans la composition du produit analysé. Les résultats obtenus sont en totale conformité avec les normes décrites par la **Ph. Eur. (2014)**.

Selon les spécifications décrites dans ces normes européennes, les résultats obtenus pour le dosage (titrage par potentiomètre) du principe actif, appartiennent à l'intervalle de confiance [98,5-101.0], ce qui signifie que le Piroxicam est pur et exempt d'impuretés.

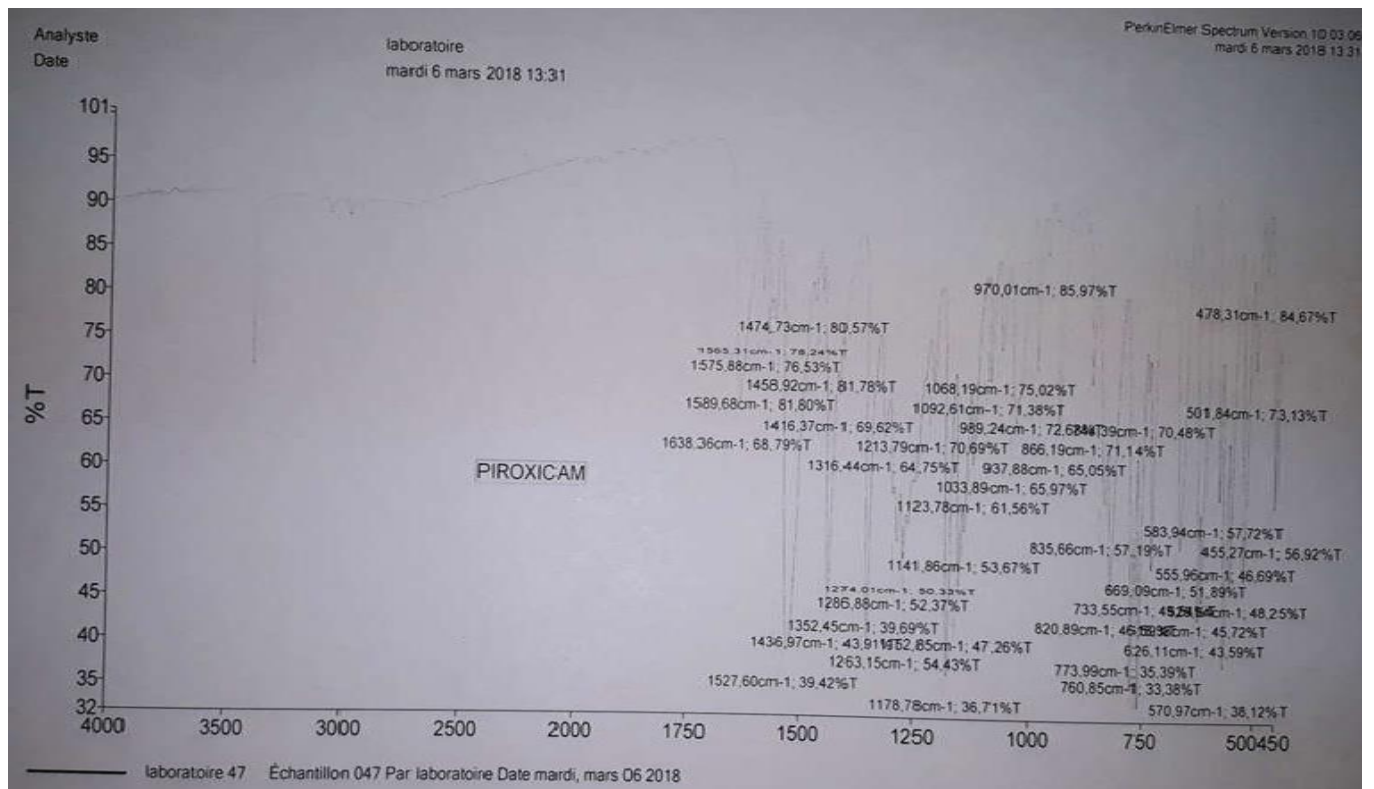


Figure 3.2. Spectre du Piroxicam identifié par infrarouge.

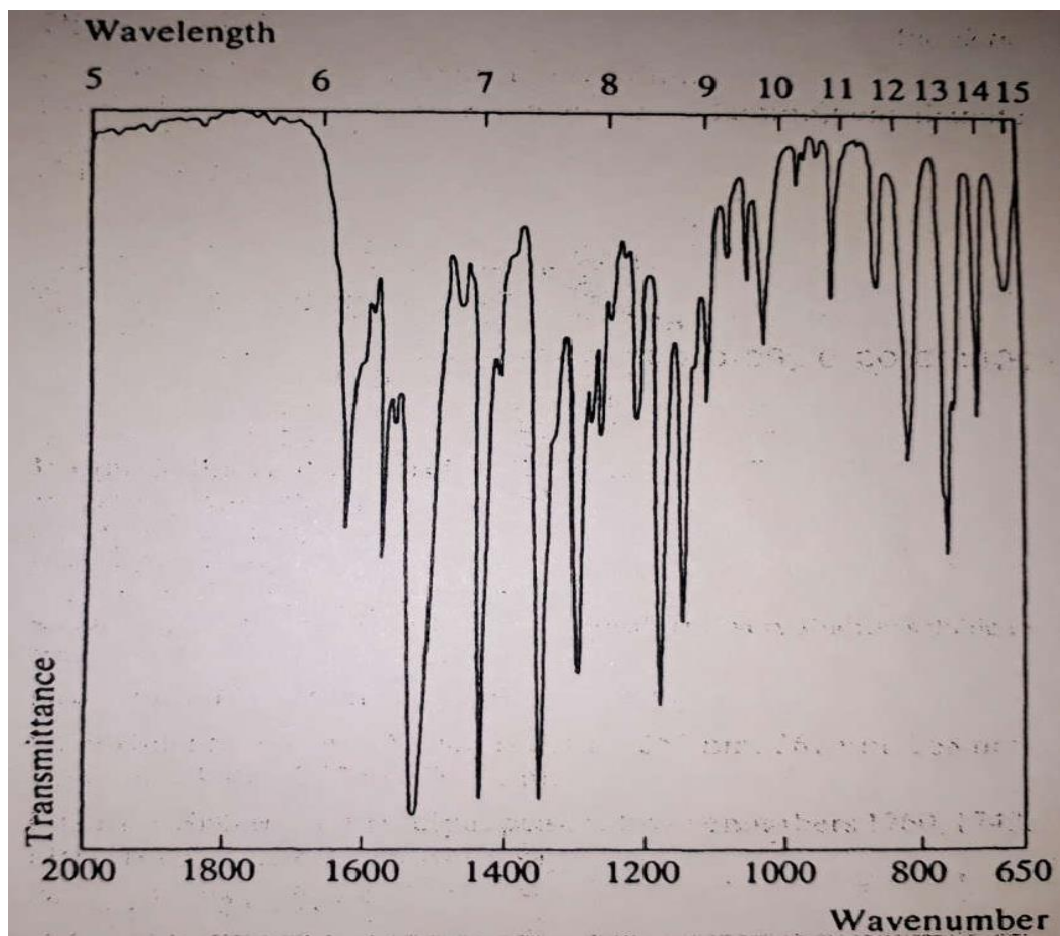


Figure 3.3. Spectre Infra-Rouge du Standard de Contrôle et de Référence SCR.

3.2.2. Résultats du contrôle physicochimique de l'hydroxyde de sodium :

Les résultats du contrôle physico-chimique de l'hydroxyde de sodium sont regroupés dans le tableau 3.3.

Tableau 3.3 : Résultats du contrôle physicochimique de l'hydroxyde de sodium.

Tests	Résultats	Normes	Conformité
pH	11,19	11,0	Conforme aux spécifications décrites dans Ph. Eur. (2014)
Identification	Formation de précipité blanc dense	Formation d'un précipité blanc et dense	
Aspect de la solution	Limpide et incolore	Limpide et incolore	
Recherche des chlorures	L'opalescence de la solution à examiner est moins prononcée que celle du témoin	L'opalescence de la solution à examiner est moins prononcée que celle du témoin	
Recherche des sulfates	L'opalescence est moins prononcée que celle du témoin	Opalescence de la solution à examiner moins prononcée que celle du témoin	
Recherche de fer	Coloration rose moins intense que celle du témoin	La coloration rose éventuelle de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin	
Dosage	99,59%	97-100,5%	

Le pH de la solution d'hydroxyde de sodium est de 11,19. Il est donc conforme à la norme (Au minimum 11,0) de la **Ph. Eur. (2014)**. Le résultat du pH indique l'absence d'impuretés alcalines ou acides au niveau de l'excipient hydroxyde de sodium.

Le test d'identification appliqué sur l'excipient (hydroxyde de sodium), permet la formation d'un précipité blanc et dense (figure 3.5), ce qui est en totale adéquation avec les normes décrites par la **Ph. Eur. (2014)**. En outre, le dosage colorimétrique d'hydroxyde de sodium a donné une valeur de 99.59% qui est incluse dans l'intervalle prescrit par les normes en vigueur (97.0% - 100.5%).

Le test de la recherche des chlorures (les chlorures de sodium) est conforme à la norme de la **Ph. Eur. (2014)**, car la coloration de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin (figure 3.6). Les chlorures sont largement répandus dans la nature, généralement sous forme de sels de sodium (NaCl) et de potassium (KCl). Les principaux symptômes décrits lors de l'intoxication par le chlorure de sodium sont de nature digestif et nerveuse (**Kane et al., 2004**). Il a été avancé que le chlorure jouait un rôle dans l'hypertension. Selon certaines indications, il semblerait que le sodium et le chlorure à la fois sont nécessaires pour exercer un effet hypertenseur, ce qui entraîne la mort par

éclatement des globules rouges.



Figure 3.5. Formation d'un précipité blanc et dense (**Originale, 2018**).



Figure 3.6. Test de recherche des chlorures dans l'hydroxyde de sodium (**Originale, 2018**).

En ce qui concerne la recherche des sulfates, nous avons obtenu une coloration moins intense de la solution à examiner par rapport à la solution témoin (figure 3.7).

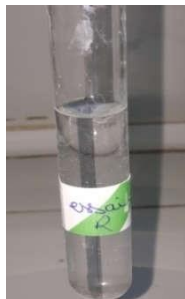


Figure 3.7 : Test de recherche des sulfates dans la soude (**Originale, 2018**).

Concernant la recherche de fer, la coloration rose de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin (figure 3.8), conformément aux normes internationales décrites dans les monographies de la **Ph. Eur. (2014)**, ce qui indique l'absence d'impuretés de nature ferrique.



Figure 3.8. Test de recherche de fer (**Originale, 2018**).

Ces derniers (impuretés ferriques) sont toxiques dans certains cas. L'intoxication par le fer évolue en quatre phases : phase initiale dominée par des douleurs abdominales, vomissements et diarrhées

sanglantes, suivie par une phase de rémission de quelques heures, puis par phase de défaillance caractérisée par des convulsions, hypotension artérielle, hyperglycémie, déshydratation, insuffisance rénale aiguë, hépatite cytolytique et complications hémorragiques, et enfin de sténoses digestives (Mérghabane, 2013).

3.2.3. Résultat du contrôle physicochimique de propylène glycol

Les résultats de ces analyses sont présentés dans le tableau 3.4.

Tableau 3.4 : Résultats du contrôle physico chimique du propylène glycol.

Test	Résultats	Normes	Conformité
Densité	1,038	1,035-1,040	Conforme aux spécifications décrites dans Ph. Eur. (2014)
Aspect	limpide et incolore	limpide et incolore	
Acidité	0,05 ml	Le virage au bleu ne nécessite pas plus de 0,05 ml d'hydroxyde de sodium 0,1M	
Substances oxydantes	0,1ml	Le volume de thiosulfate de sodium 0,05M utilisé n'est pas > 0,2 ml	
Substances réductrices	Aucun changement.	La solution ne présente aucune modification.	
Cendres sulfuriques	0,01	≤0,01	
Teneur en eau	0,19	≤ 2 %.	

Il ressort de notre étude que le résultat obtenu de la mesure de la densité (1,038) corrobore aux normes de la **Ph. Eur. (2014)**. L'aspect de la substance (propylène glycol), en comparaison avec l'eau purifiée, est limpide et incolore (figure 3.9). Nous constatons que ce résultat est aussi en totale adéquation avec les normes sus-indiquées.



Figure 3.9 : Aspect de la solution de propylène glycol (Originale, 2018).

Pour l'acidité : le virage de la solution en bleue ne nécessite pas plus de 0,05ml d'hydroxyde de sodium (figure 3.10 A) et cette valeur est égale à la norme décrite par la **Ph. Eur.(2014)**

Le volume de thiosulfate de sodium 0,05M utilisé pour la recherche des substances oxydantes est égal à 0,1 ml. Cette valeur reste toujours inférieure aux limites recommandées par la **Ph. Eur. (2014)** (0,2ml) (figure 3.10 B)

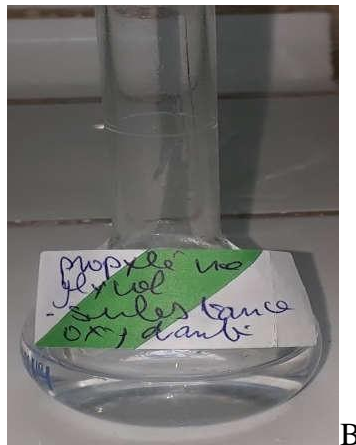
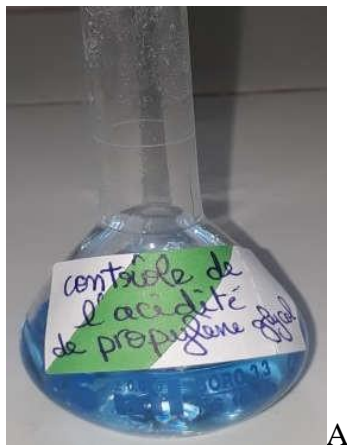


Figure 3.10. Résultats du contrôle de l'acidité (A) et la recherche des substances oxydantes (B) dans le propylène glycol (Originale, 2018)



Figure 3.11. Test de recherche des substances réductrices (Originale, 2018)

Pour le taux des cendres sulfuriques, le résultat obtenu est de 0,01%. Ce taux est inférieur à la limite tolérée qui est $\leq 0,01\%$.

Concernant la teneur en eau, le résultat obtenu est de 0,19 % est en conformité à la norme qui est $\leq 2\%$ (Ph. Eur., 2014)). En outre, la teneur en eau nous renseigne sur la bonne déshydratation et conservation du Propylène glycol, ce qui réduit les risques de contamination microbienne par la diminution de l'activité de l'eau car les micro-organismes exigent pour leur croissance un certain seuil d'humidité sinon ils ne se développent pas (Delarras, 2014).

3.2.4. Résultats du contrôle physicochimique de l'eau purifiée

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau purifiée sont tous portés dans le tableau 3.5.

Tableau 3.5. Résultats du contrôle physico chimique de l'eau purifiée.

Test	Résultat	Norme	Conformité
Substances Oxydantes	Faiblement colorée en rose	La coloration reste Légèrement colorée en rose	Conforme aux spécifications décrites dans Ph. Eur. (2014)
Nitrate	Coloration bleue Moins intense que celle du témoin.	La coloration bleue de solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin ($\leq 0,2\text{ppm}$)	
Métaux lourds	Coloration brune moins intense que celle du témoin	Coloration brune de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin ($\leq 0,1\text{ppm}$)	

La coloration rose de la solution reste inchangées après chauffage ce qui indique l'absence des substances oxydantes dans l'eau purifiée analysée (figure 3.12). Ce test, pendant longtemps, était le

seul essai qui pouvait tenter de prouver l'absence ou la présence très limitée de résidus organiques dans l'eau pour l'usage pharmaceutique.

Les résultats de la recherche des métaux lourds (plomb) dans les matières premières ont montré que la coloration des solutions à examiner est moins intense que celle du témoin (figure 3.13). Certains métaux lourds sont toxiques même à faibles concentrations. C'est pourquoi la **Pharmacopée Européenne (2014)** exige des valeurs seuils pour protéger les patients et garantir leur sécurité.

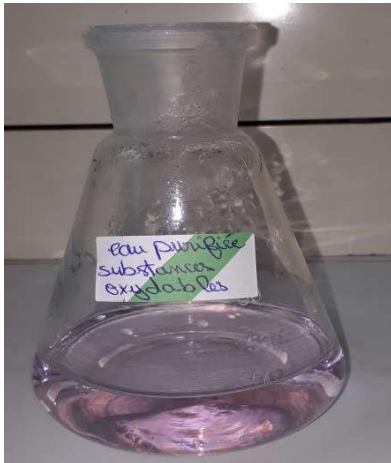


Figure 3.12. Recherche des substances oxydantes (**Originale, 2018**).



Figure 3.13. Résultat de recherche des métaux lourds (**Originale, 2018**).

Le plomb est une des substances dont les effets toxiques chez l'humain sont les mieux connus. La toxicité chronique du plomb concerne principalement les effets hématologiques car le plomb interfère avec la synthèse de l'hème en modifiant principalement l'activité de 3 enzymes: les acides delta-aminolévuliniques, synthétase et déshydrase, et la ferrochélatase. Il possède aussi un effet neurotoxique car ce dernier entraîne une perturbation du développement neurocomportemental de l'enfant qui peut se traduire par une réduction de l'intelligence et des modifications de comportement. Aussi il provoque des troubles de reproduction car une exposition prénatale peut induire une légère réduction de l'âge gestationnel et du poids de naissance. Par ailleurs, les autres effets notables à faible dose sont l'effet potentiel hypertensif chez l'homme adulte et l'interférence avec le métabolisme de la vitamine D chez l'enfant (**Bernier et al., 1991**).

En ce qui concerne le nitrate, nous avons obtenu une coloration moins intense de la solution à examiner par rapport à la solution témoin (figure 3.14).

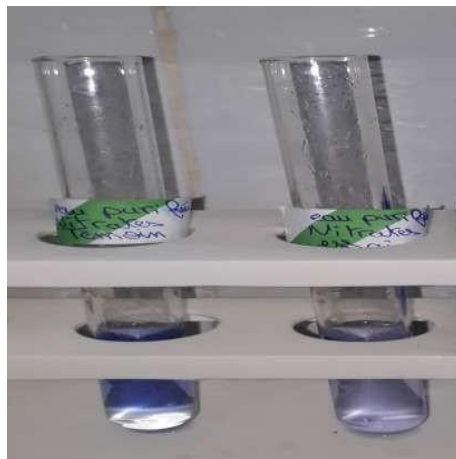


Figure 3.14. Résultats de recherche de nitrates (**Originale, 2018**).

La concentration des nitrates ne doit pas dépasser un taux de 0.2 ppm car ils sont toxiques à certain seuil. Cette toxicité se manifeste par une élévation de la fréquence des cancers gastriques, des dommages rénaux, illustrés par l'apparition de leucocytes et du sang dans les urines. Aussi, ils peuvent avoir de graves effets, parfois mortels, sur la capacité de l'hémoglobine à transporter l'oxygène. Les nitrates provoquent aussi un déséquilibre ionique et un besoin en ATP, pouvant s'expliquer par une élévation du taux du glucose sanguin, des lésions tissulaires, une diminution significative du taux du glutathion réduit (GSH) au niveau des différents organes (foie, rate, intestins, reins et testicules). Ils peuvent induire une augmentation bien claire de la concentration du cholestérol sérique, cet effet peut être expliqué par la réduction de la sécrétion des hormones thyroïdiennes T3 et T4 (dans l'hypothyroïdie il peut y avoir une hyperlipémie et une hypercholestérolémie) (**Boukerche et al., 2007**).

3.3. Contrôle physico chimique du produit finis (Prixam®)

Les résultats des analyses physicochimiques sont rapportés dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6 : Résultat du contrôle physicochimique du produit finis.

Tests	Résultats	Normes	Conformité
Aspect	Gel hydrophile, homogène, translucide	Gel hydrophile, homogène, translucide	Conforme aux spécifications décrites dans Ph. Eur. (2014)
Masse délivrable/tube	49,03 g	49 à 51 g	
pH	7,60	7,2 à 8,2	
2-pyridylamine (HPLC)	2-pyridylamine : 104737940 105898251 Prixam® : 513126248 517024042	S'il apparait, dans le chromatogramme avec la solution à examiner, un pic correspond à 2-pyridilamine, sa surface n'est pas supérieure à celle du pic principal dans le profil obtenu avec le témoin	
Dosage (Piroxicam %)	0,5083 %	0,475 à 0,525 %	

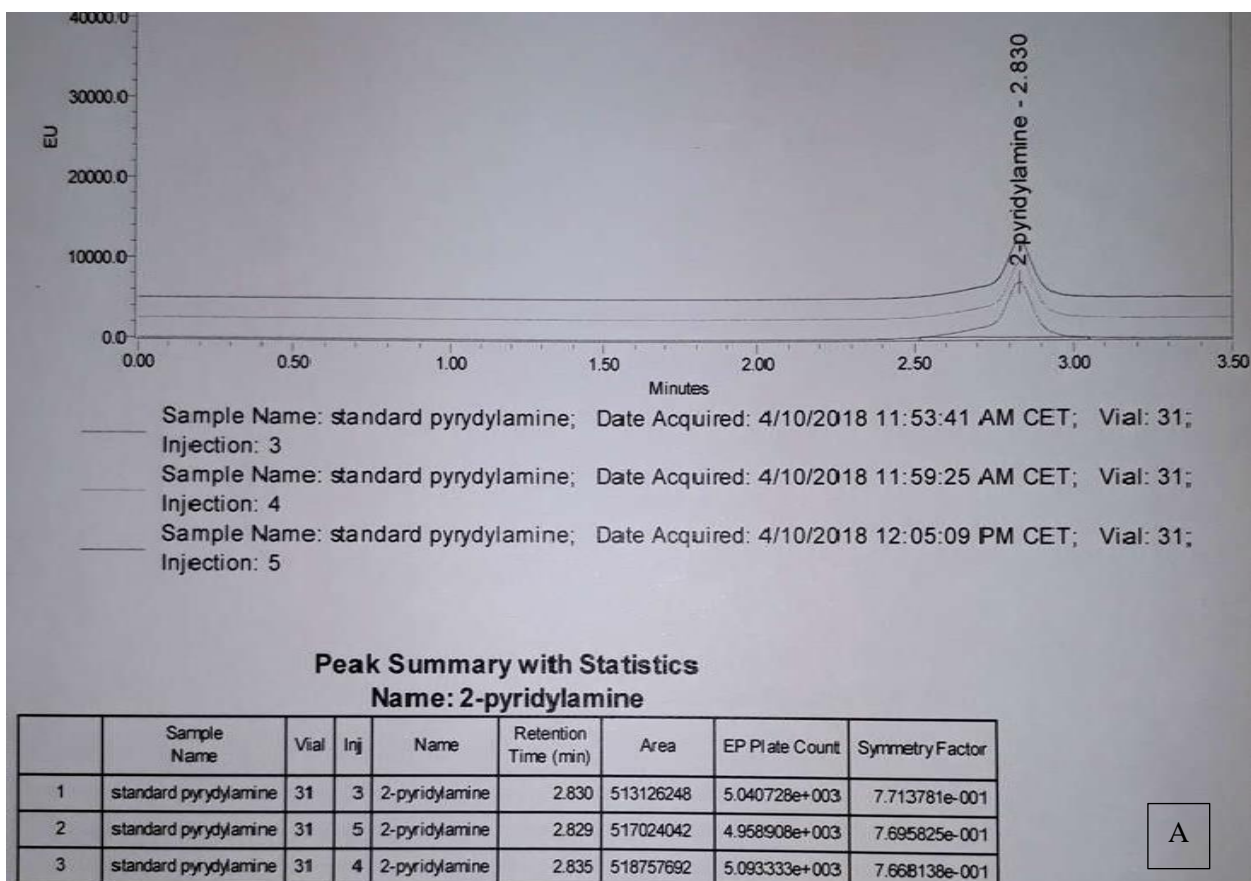
Les résultats obtenus montrent que Prixam[®] est un gel d'un aspect homogène, hydrophile et translucide, ce qui est en totale conformité avec les normes du dossier pharmaceutique (monographie interne de SAIDAL, 2014). Cette qualité satisfaisante est le résultat de la conformité des matières premières et du principe actif qui entrent dans la composition du gel.

Le pH du produit fini est de 7,60. Il est donc conforme à la norme (7,2 à 8,2) de la **Ph. Eur. (2014)**. Cette mesure du pH, indique l'absence d'impuretés alcalines ou acides au niveau du produit fini.

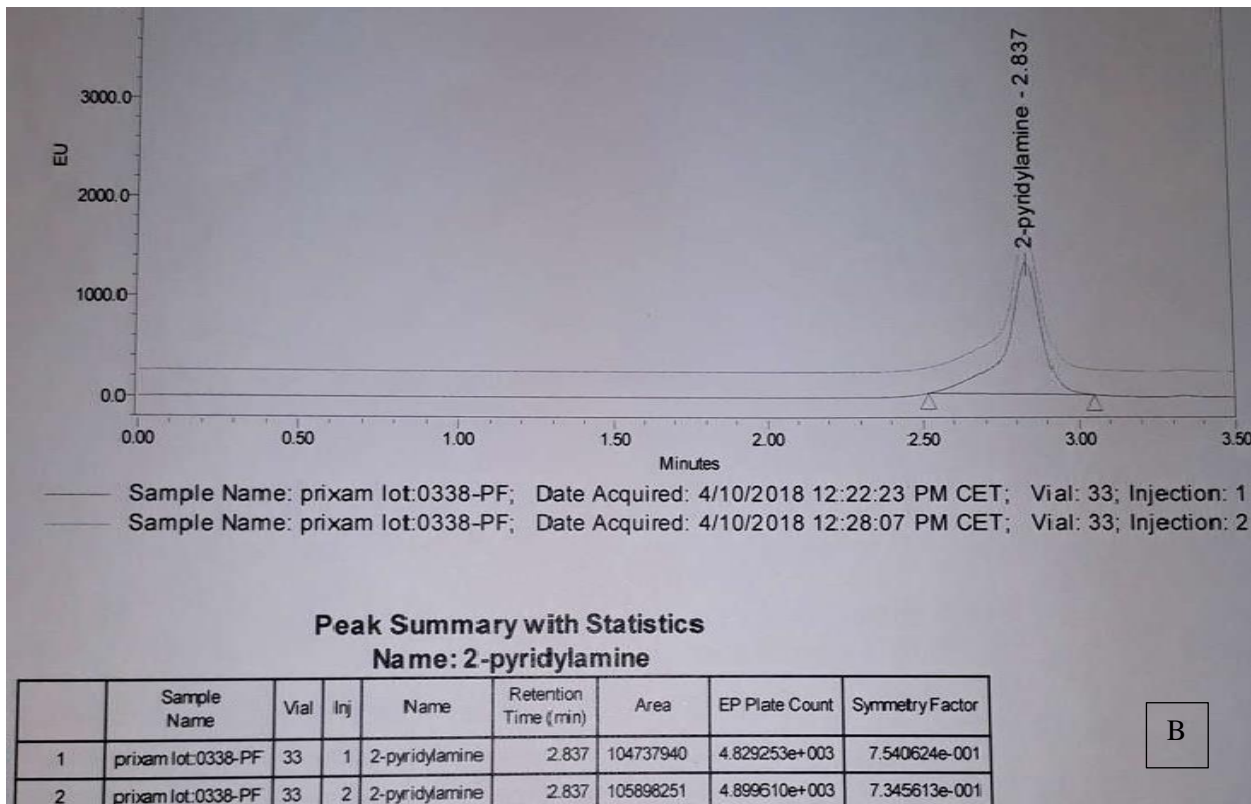
Le résultat de dosage de Piroxicam obtenu est de 0,5072% ce qui est en adéquation avec les monographies pharmaceutiques. Le résultat de dosage de Piroxicam, effectué par spectrophotométrie d'absorption dans l'UV, prouve d'une part la bonne maîtrise du processus de fabrication, et d'autre part, que la posologie de prescription va satisfaire aux besoins des patients.

Le 2-pyridylamine a été dosé par HPLC dans le gel Prixam[®] afin d'en déterminer sa présence et sa concentration, en comparaison avec les normes en vigueur. Les résultats chromatographiques (figure 3.14) obtenus révèlent, d'une manière générale, que cette impureté a été détectée dans tous les lots de l'hydrogel mais à des concentrations inférieures à la limite de détection fixée par la Pharmacopée Européenne. La présence de cette impureté dans les gels AINS, à une concentration élevée, peut provoquer la dégradation du principe actif (Piroxicam) d'où la nécessité de ce dosage chromatographique et qui s'est révélé conforme.

L'ensemble des analyses physico-chimiques va permettre de juger que le produit fini Prixam[®] comme étant d'une qualité physico-chimique satisfaisante et acceptable.



A



B

Figure 3.14. Profil chromatographique (HPLC) pour identification et dosage du 2-pyridalamine (impureté) présente dans le gel Prixam (B), en comparaison avec le standard (A).

3.4. Résultats du contrôle microbiologique

3.4.1. Résultat du contrôle microbiologique de l'eau purifiée

L'eau purifiée fait partie intégrante du processus de fabrication des médicaments, dans la préparation des milieux de culture, le nettoyage du matériel de production et de laboratoire ; c'est la raison pour laquelle ce contrôle microbiologique revêt une importance particulière.

La qualité microbiologique de l'eau purifiée doit répondre aux normes de la Pharmacopée Européenne, dont le nombre de germes recherchés doit être inférieure ou égale 100 UFC/ ml. Les résultats obtenus du dénombrement de deux boîtes est de l'ordre de 17 colonies. Cette valeur est inférieure à 100 UFC/ ml, ce qui confirme que l'eau purifiée analysée est conforme aux normes.

L'eau étant un élément crucial dans l'industrie pharmaceutique, son contrôle microbiologique constitue une étape nécessaire et routinière. Lors de notre étude, l'eau purifiée analysée, dans le laboratoire, a révélé une bonne qualité microbiologique ce qui conforme aux normes citées par la Pharmacopée Européenne.

3.4.2. Contrôle microbiologique du produit fini (Prixam®)

Un contrôle microbiologique des préparations pharmaceutiques semi-solides (gel topique AINS), de marque Prixam®, a été effectué selon la méthodologie recommandée par la Pharmacopée Européenne (2014). Les résultats de ce contrôle sont regroupés dans le tableau 3.7.

Tableau 3.7. Résultat du contrôle microbiologique du produit fini Prixam®.

Germes recherchés	Dilutions utilisés		Normes Pharmacopée Européenne (2014)
	10 ¹	10 ²	
Dénombrement des germes aérobies totaux	Absence	Absence	≤10 ² UFC / g
Dénombrement des levures et moisissures	Absence	Absence	≤10 ¹ UFC/ g
Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence
Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence

Les essais décrits pour le contrôle microbiologique des produits non obligatoirement stériles permettent le dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et des levures capables de se développer en aérobiose. Ces essais servent avant tout à déterminer si un produit est conforme aux exigences microbiologiques spécifiées de sa monographie (Roche et Niel, 2006).

Eu égard des résultats obtenus lors de cette analyse, une absence totale des germes viables (bactéries (figure 3.15), levures et moisissures (figure 3.16)) et une absence des germes pathogènes (figure 3.17) (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) a été constatée dans le lot étudié ce qui est en totale conformité avec les exigences de la Pharmacopée Européenne (2014).

Ceci nous permet donc d'en déduire que le gel Prixam[®] est d'une bonne qualité microbiologique et cela est dû à plusieurs facteurs, à savoir :

- Efficacité du conservateur : Les conservateurs agissent sur les microorganismes de façon différente selon le conservateur considéré, à un niveau bien déterminé de la structure ou de métabolisme du microorganisme, appelé site d'action ou cible du conservateur. L'action peut se situer au niveau de la paroi bactérienne, des membranes, au niveau ribosomal sur la synthèse des protéines. Dans notre étude, le Prixam[®] contient l'alcool benzylique comme conservateur antimicrobien de cette préparation semi-solide non obligatoirement stérile. Les alcools (alcool benzylique par exemple) altèrent la membrane des microorganismes en solubilisant les lipides membranaires (Mussard, 2006).

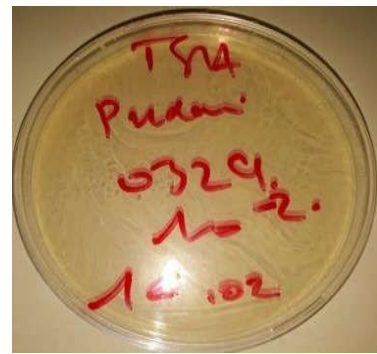


Figure 3.15. Absence des germes aérobies totaux sur le milieu TSA (Originale, 2018).



Figure 3.16. Absence des levures et des moisissures sur le milieu Sabouraud (Originale, 2018).



A



B

Figure 3.17. Absence de *Staphylococcus aureus* sur milieu mannitol sel (A) et *Pseudomonas aeruginosa* sur le milieu Cétrimide (gel Prixam[®]) (Originale, 2018).

La croissance du micro-organisme dans les gels est un phénomène de trouble qui se produit en raison de pourcentage élevé d'eau dans le milieu. Ce problème peut changer les propriétés physico-chimiques des gels tels que la viscosité qui peut affecter ou fluctuer le taux de surface de pénétration. Le résultat de ce contrôle a montré une bonne activité antimicrobienne du conservateur après un temps d'incubation et la croissance des micro-organismes étaient inférieures aux normes en vigueur (**Pharmacopée Européenne, 2014**). Cela signifie que l'application d'alcool benzylique comme conservateur microbien pour les gels est suffisant (**Moghbel et Faghiri, 2006**).

Il est à noter que le conservateur devrait présenter les critères suivants :

- doit être dénué de tout effet toxique irritant, sensibilisant au niveau de la peau ou des membranes muqueuses ;
- doit présenter un large spectre d'activité (contre Gram⁺ et Gram⁻, levures et moisissures);
- Solubilité dans l'eau : les microorganismes se multiplient en phase aqueuse, il est donc important que le conservateur se maintienne à concentration efficace dans la phase hydrophile du produit, d'où l'importance de la solubilité du conservateur dans l'eau ;
- Propriétés physique : doit être incolore, inodore et insipide dans le produit fini ;
- Volatilité : les conservateurs devraient être non volatiles, évitant une perte d'activité si le produit est sujet à des élévations de température, que ce soit pendant la fabrication ou durant son usage ;
- La compatibilité du conservateur avec le processus de fabrication ;
- Doit être hautement stable vis-à-vis de la température, l'air, l'humidité, la lumière, l'eau, le pH ;
- Doit maintenir leur efficacité durant toute la durée de vie du médicament (**Mussard, 2006**).

Au delà du facteur alcool benzyle qui joue son rôle comme conservateur antimicrobien dans le gel topique, la qualité microbiologique satisfaisante du gel pourra être liée à d'autres facteurs :

- Efficacité de la désinfection du matériel et des locaux ;
- Absence de contamination lors de la fabrication et du prélèvement des échantillons ;
- Absence des impuretés dans les matières premières ;
- Respect des Bonnes Pratiques d'Hygiène.

La contamination des produits pharmaceutiques par les micro-organismes constitue un risque majeur dans l'industrie pharmaceutique car cela peut affecter l'intégrité du produit et la sécurité du patient. Pour prévenir les contaminations, les entreprises pharmaceutiques dans le monde entier sont tenues d'adhérer à des réglementations strictes et des procédures de contrôle de qualité rigoureuses (**Tyski, 2011**). Ces processus réglementaires et procédures comprennent diverses méthodes de contrôle de qualité, telles que ceux décrits dans United States Pharmacopeia (USP), Pharmacopée Européenne (EP) et Pharmacopée Japonaise (JP). Quand correctement suivis, ces procédures peuvent aider à identifier la contamination microbienne avant la sortie du produit, évitant ainsi leurs rappels (**Ratajczak et al., 2015**).

3.6. Activité anti-inflammatoire topique du gel Prixam®

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire locale obtenus pour le gel Prixam®, en termes de poids des oreilles gauches, sont présentés dans la figure 3.18, en comparaison avec le contrôle négatif (gel excipient). A noter que ce test a été exploré dans le but de vérifier l'efficacité thérapeutique du Piroxicam dans la réduction de l'inflammation topique. La technique que nous avons adoptée est celle de l'œdème locale des oreilles induit par le xylène. Cette méthode a été utilisée en raison de sa simplicité d'exécution, de sa rapidité d'induction, des symptômes caractéristiques de l'inflammation (développement de l'œdème dans l'heure qui suit l'application cutanée du xylène avec un effet maximal au bout de cinq heures), et également en raison de sa reproductibilité (**Rahmani, 2017**).

Nous avons constaté que le gel Prixam® a provoqué une réduction de l'inflammation avec une moyenne du poids des oreilles gauche de 15 mg, inférieure à celle du contrôle négatif (30 mg). Cependant, cette différence n'est significative sur le plan statistique ($P > 0.05$) ; ceci pourra être lié probablement à l'échantillonnage qui est très réduit (5 souris par lot).

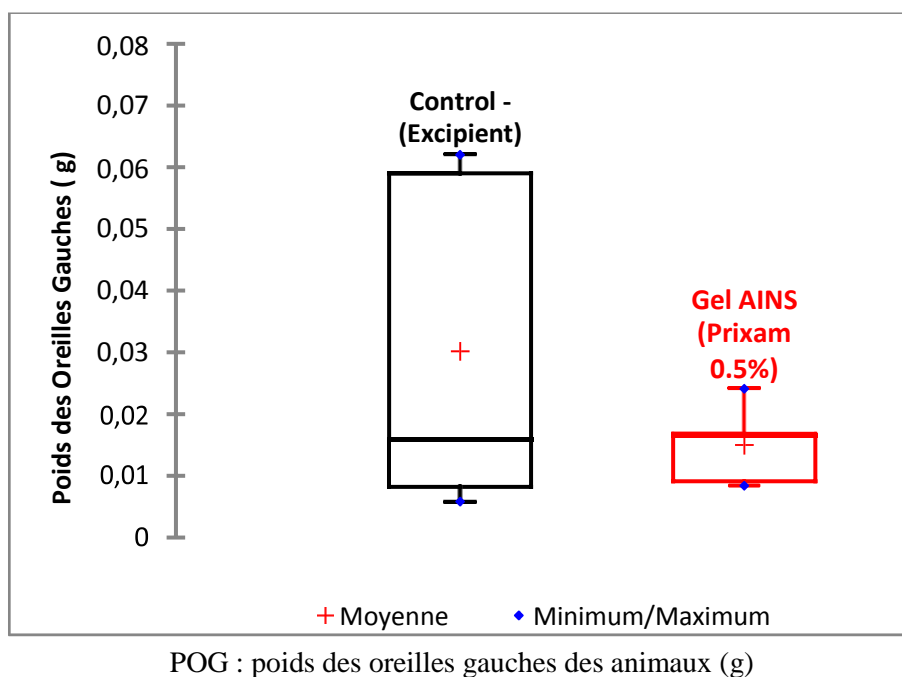


Figure 3.18. Activité anti-inflammatoire topique du gel Prixam® en comparaison avec le contrôle -.

Dans la littérature, il a été rapporté que le gel ayant comme principe actif le Piroxicam est doué d'un pouvoir anti-inflammatoire marqué, contrairement aux résultats que nous avons obtenus. Dans une autre étude scientifique récente (**Rahmani, 2017**), il a été rapporté que l'administration de l'Indométacine ou du Piroxicam, par voie orale et à une dose de 10 mg/kg, induit une diminution remarquable du diamètre de la patte du rat. L'épaisseur de l'œdème passe de 4.144 mm à 4.232 pour l'indométacine, et de 5.132 mm à 3.81 mm. Ces diminutions de l'œdème sont importantes en comparaison avec le groupe témoin (NaCl, 0.9%). De plus, l'administration orale de Piroxicam et de l'Indométacine à une dose de (10 mg/kg poids corporel) entraîne une diminution significative de l'œdème au cours de la troisième, quatrième, cinquième et sixième heure avec un pourcentage d'inhibition de 46.06%, 56,23%, 65.11%, et 82.37%, respectivement.

CONCLUSION

Un médicament est un produit pas comme les autres dont sa composition possède des propriétés curatives et préventives à l'égard des maladies, il doit répondre à cinq exigences fondamentales : qualité, efficacité, pureté, identité et sûreté ; Il ne peut être mis en circulation qu'à l'issue de contrôles de la qualité portant sur toute la chaîne de production, le risque médicamenteux constitue un problème majeur de santé publique tant sur le plan clinique que sur celui des coûts.

La maîtrise de la contamination dans l'industrie pharmaceutique reste une préoccupation constante et s'inscrit dans le contexte général de l'efficacité et de la sécurité des médicaments. Cependant les missions assignées aux contrôles organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques du médicament ont évolué ; elles sont présentes tout au long de la chaîne de production et au niveau du produit fini pour répondre aux exigences réglementaires.

La contamination microbiologique ou physico-chimique des produits pharmaceutiques constitue un risque majeur dans l'industrie pharmaceutique car cela peut affecter l'intégrité du produit et la sécurité du patient. Pour prévenir les contaminations, les entreprises pharmaceutiques dans le monde entier sont tenues d'adhérer à des réglementations et des procédures de contrôle de qualité rigoureuse.

Au cours de notre étude, une série d'analyses physico-chimiques, organoleptiques microbiologiques ont été effectuées sur une préparation pharmaceutique semi-solide non obligatoirement stérile (gel AINS Prixam® (Piroxicam 0.5%) fabriquée par le laboratoire Saidal (Dar El Beida, Alger) ainsi que les matières premières (trois excipients) et ceci dans un cadre du contrôle de qualité.

Sur le plan organoleptique, les analyses effectuées ont permis de vérifier l'homogénéité de l'aspect, de la couleur et de la solubilité des matières premières (hydroxyde de sodium, propylène glycol, Piroxicam) ainsi que le produit fini (Prixam®), en conformité avec les normes en vigueur de la Pharmacopée Européenne.

Sur le plan physico-chimique, l'ensemble des paramètres qualitatifs et quantitatifs analysés (pH, nitrates, chlorures, substances oxydables, substances réductrices, sulfates, fer, cendres sulfuriques, teneur en eau, perte à la dessiccation, métaux lourds) concernant les matières premières et le produit finis permettent de vérifier l'absence ou la présence d'une très faible teneur d'impuretés, en comparaison avec les normes internationales de la Pharmacopée Européenne, ce qui dénote d'une qualité physico-chimique satisfaisante.

Une identification réalisée par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge et une analyse chromatographique HPLC ont permis de confirmer l'identité des groupements fonctionnels et la pureté du principe actif ainsi que la présence, éventuelle, d'impuretés dans le principe actif (Piroxicam) mais à des seuils inférieurs à la limite de détection.

Sur le plan microbiologique, le dénombrement des bactéries aérobies et des levures et moisissures ainsi que les germes pathogènes (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) a confirmé une absence totale de ces germes pour le lot étudié. Ces valeurs nous ont permis de conclure de la qualité microbiologique satisfaisante du médicament qui est la conséquence de respect des règles de Bonnes Pratiques de Fabrication mais aussi de la présence d'un conservateur biocide à large spectre, en l'occurrence l'alcool benzylique.

D'un point de vue pharmacologique, l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire topique du gel Prixam® a été explorée, *in vivo*, par le test de l'œdème des oreilles induit par le xylène, en comparaison avec le contrôle négatif. Les résultats obtenus ont révélé la présence de la réduction de l'inflammation (mesurée par le volume des oreilles), mais qui demeure non significative en comparaison avec le contrôle négatif.

En perspectives de cette étude il serait intéressant d'insérer des Méthodes Microbiologiques Rapides (MMR) dans le laboratoire de microbiologie de l'industrie pharmaceutique SAIDAL afin de réaliser les différents tests microbiologiques. Notamment que ces méthodes présentent plusieurs avantages, parmi lesquels un intérêt économique qui réside dans la réduction significative du temps des résultats par rapport aux méthodes traditionnelles, ce qui permet la libération rapide du produit dans le marché

Par ailleurs, le principe actif Piroxicam est un ingrédient anti-inflammatoire puissant ; il serait intéressant de développer, éventuellement, une formule pharmaceutique adaptée, comme par exemple un nano-Emulgel, qui permet une meilleure pénétration du principe actif à travers le tissu cutané et donc une meilleure biodisponibilité et un effet thérapeutique optimum.

Evaluer les propriétés rhéologiques ainsi que la toxicité cutanée et la comparaison du générique avec son princeps

L'industrie pharmaceutique est un secteur très sensible et que la vigilance des responsables, la quantification, la motivation, la formulation du personnel, la compétence scientifique et le respect des normes exigées par les monographies sont à la base d'un produit de bonne qualité.

Références Bibliographiques

1. Aiache J.M, Aiache S et Renoux R. 1995. Initiation à la connaissance des médicaments 2^{ème} édition. Masson, Paris, France, p : 24.
2. Aiache J.M, Aiache S, Cohen Y, Renoux R. 2001. Initiation à la connaissance du médicament. 4^{ème} éditions, Masson, Paris, France.
3. Aiache, JM, Beyssac E, Cardot, JM, Hoffart, V, Renoux R. 2001. Initiation à la connaissance du médicament. Edition Masson, Paris, France, p : 337.
4. Alexandre P. 2014. La qualité et ses outils applicatifs. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Nantes. Faculté de Pharmacie, France.
5. Al-Reza SM, Yoon JI, Kim HJ, Kim JS, Kang SC. 2010. Anti-inflammatory activity of seed essential oil from *Zizyphus jujuba*. Food and Chemical Toxicology, 48(2), 639-643.
6. Altavilla A. 2012. La recherche sur les cellules souches, quels enjeux pour l'Europe ? L'harmattan. p : 673.
7. Ankri, J. (1999). Médicament et santé publique. Actualité et dossier en santé publique, n°27.
8. ANSM (Agence Nationale de Sécurité des Médicaments). 2016. Le code de la santé publique article L. 5121-15.
9. Aveline L, Cartier O, Cuet P, Daucé P, March C, Désévéday E, Duvilliez P et Duchet N. 2000. Gériatrie. Editions scientifiques, techniques et médicales, p: 359.
10. Bannwath A. 2005. Pharmacologie : classes pharmacologiques. 4^{ème} édition. ISBN2918849. P : 85.
11. Banwarth B. 1998. Maladies inflammatoires. Edition revue de praticien, p : 1011.
12. Bernier CH, Chagnon M, Gagné D, Kosatsky TP, Levallois, A. 1991. La Santé publique et la contamination de l'environnement par le plomb. Institut national de santé publique du Québec, Canada, pp :7-10.
13. Bhavna D, Geeta A et Harikumar SL. 2014. Enhanced transdermal permeability of piroxicam through novel nanoemulgel formulation, International Journal of Pharmaceutical Investigation, 1(4):2, 66.
14. Boiteux-Jurain M, Chabanon P, Bichard D, Berthou J, Medjoub M, Cornette C, Limat S. 2015. Mise sous assurance qualité de l'analyse pharmaceutique: évaluation des pratiques. Le Pharmacien Hospitalier et Clinicien, 50(3), 323.
15. Bolzinger MA, Briançon S, Chevalier Y, François P. 2015. Formulation des systèmes pâteux ou préparations semi-solides. Editions Techniques d'Ingénieur, France.
16. Bonnet PA. 2007. Contrôle de qualité des médicaments. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Saint-Denis, France.
17. Bouchard J. 2009. Les bonnes pratiques de fabrication dans l'industrie pharmaceutique, Enjeux, défis et applications. Les Presses de l'Université Laval, p : 313.
18. Bouhini A. 2016. Criblage phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de Doctorat, Université Mohammed V-Rabat, Maroc, 199 p.
19. Boukerche S, Aouacheri W et Saka S. 2007. Les effets toxiques des nitrates : étude biologique

- chez l'homme et chez l'animal. *Annales de Biologie Clinique*, (4):65, 388-389.
20. Bounouira F. 2015. Les gels, aspects théoriques et application. Thèse de Doctorat université Mohammed V. Rabat, Maroc, p : 106.
 21. Branger A, Richer MM et Roustel S. 2007. Alimentation et processus technologiques. Educagri éditions, Dijon, France, p : 295.
 22. Charpentier B, Hamon F, Lorleac H, Harlay A, Huard A, Ridoux L. et Chansallé S. 2004. Guide du préparateur en pharmacie, 2^{ème} Edition, Maloine, Paris, France, p : 40.
 23. Chauvel AM. 1996. Méthodes et outils pour améliorer la qualité de votre organisation. Edition Dunod, Paris, France, p : 30.
 24. Cohen Y. 1997. Pharmacologie. Edition Masson, France, p : 337.
 25. Delamare J. 2002. Dictionnaire illustré des termes de médecine. 3^{ème} édition Maloine, Paris, France.
 26. Delarras C. 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire, recherche de bactéries et levures moisissures. Edition Lavoisier, Paris, France, p : 757.
 27. Derbré S. 2010. Médicaments, compléments alimentaires, alicaments ou nutraceutiques, comment y voir clair?. *Actualités Pharmaceutiques*, 49(496), 14-19.
 28. Dessaigne A. 2004. Maitrisez la fiche posologique d'un médicament. Editions heures de France, France, p : 71.
 29. Dictionnaire SAIDAL. 2005.
 30. Edition Scientifique et Médicale. 2000. Conférences d'actualisation. Edition Elsevier, Paris, pp : 323-334.
 31. Fontenneau JM, Klusiewicz P. 2008. Cahiers du préparateur en pharmacie, Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments. Edition Wolters Kluwer, France, p : 264.
 32. Gagnault JC. 1982. Principe de la recherche du médicament, Edition Masson, Paris, p : 75.
 33. Galons S . 2007. Manipulation biochimique. 3^{ème} Edition, Doin éditeur, France.
 34. Gavrilovie M, Magonot M, Schwartz H, Gavrilovie C et Walach J. 1996. Manipulation d'analyse biochimique, 3^{ème} Edition, Doin Editeur, Genève, pp : 59-354.
 35. Gazengel JM et Orecchioni AM. 1999. Le préparateur en pharmacie, Guide théorique et pratique 2ème Tirage, Edition Tec et doc, Paris, France, pp : 332-333-689.
 36. Gentilini M, Caumes E, Danis M, Richard-Lenoble D, Bégué P, Touze JE et Kerouédan D. 2012. *Médecine Tropicale*. 6^{ème} Edition Lavoisier, Paris, France, p : 1279.
 37. Gouraud A. 2012. Généralité sur la pharmacologie et les médicaments, pp : 8-42-43-48
 38. Grandin M. 2013. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, utilisation et conseils dans la pratique officinale quotidienne. Document étayé par une analyse d'ordonnances d'une pharmacie rurale. Thèse de doctorat, Université d'Angers, France, p : 114.
 39. Gupta P, Bansal R.K, Bhardwaj J, Jaiswal T et Velpandian A. 2002. Comparison of analgesic and anti-inflammatory activity of meloxicam gel with diclofenac and piroxicam gels in animal models: pharmacokinetic parameters after topical application. *Skin Pharmacology*, 1(15):105– 111.
 40. Holloway K. 2004. Les comités pharmaceutiques et thérapeutiques, guide pratique.
 41. Hulse JH. 2008. Développement durable, un avenir incertain. Les presses de l'Université Laval, p :379.

42. Husson H. 2011. Matières premières pharmaceutiques. mondialisation et santé.
43. Kajiwara K, Osada Y. 1997. Gels handbook. Edition Elsevier, p : 212
44. Kane Y, Teko-Agbo A, Kadja M, Biao F, Kaboret Y. 2004. Intoxication par le chlorure de sodium chez des volailles d'une basse-cour à Dakar (Sénégal). *Revue Africaine de Santé et de Productions (RASPA)*, 2(1), 63.
45. Khan, M., et Akhtar, N. (2015). Regulation of stability studies to enhance the efficiency of drugregistrations to regulatory authorities. *Archives of Pharmacy Practice*, 6(3), 48-57.
46. Kirassian C. 2015. Le cassis et la reine des près : deux plantes aux propriétés anti- inflammatoires. Thèse de doctorat, Université de Lyon, France, p : 168.
47. Kirkiacharian S. 2007. Chimie médicinale, Structure et activité du médicament. *Techniques de l'Ingénieur*, p : 280-23.
48. Le Hir. 2001. Pharmacie galénique : bonne pratique de fabrication des médicaments 8^{ème} Edition Masson, Paris, France.
49. Martini MC. 2011. Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie. Lavoisier, France.
50. Mathieu A, Fonteneau J. 2008. Pseudoephedrine ephedrine shows potents anti-inflammatory activity against TNF-a-mediated acute liver failure induced
51. Mayé P. 2003. Les infrarouges en électronique.
52. Mégarbane B. 2013. Acidoses lactiques graves en dehors des états de choc Enseignement Supérieur En Réanimation, p : 442.
53. Moghbel A, Faghiri A. 2006. Influence of dimethyl sulfoxide as a penetration enhancer of piroxicam gel through biological skin. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences Autumn*: 2(4): 177-184
54. Morrison B. 2014. Chromatography. Shimadzu's. LC world talk newsletter
55. Mussard J. 2006. Les parabènes, des conservateurs omniprésents un risque pour la santé. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Nantes, France, p : 26-34.
56. Muster D. 2005. Médicaments de l'inflammation, Edition Elsevier.
57. Muster D. 2005. Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications. 3^{ème} éditions, Lavoisier, France.
58. Nga EN, Tanga RT, Lobe VS, Ebende BLN, Kojom LP, Tiekwe E, Mpondo EM. 2018. Évaluation de la Stabilité du Cotrimoxazole 240 mg/5 ml Suspension Commercialisé dans les Circuits Formel et Informel de la Ville de Douala. *Health Sciences And Diseases*, 19(2).
59. Pawlotsky P. 1995. Pathologie de l'appareil locomoteur. Edition revue de praticien, p : 1019.
60. Perlemuter L, Perlemuter G. 2010. Cycles de la vie et grandes fonctions : Cahiers des sciences infirmières. Edition Elsevier Masson SAS, France.
61. Pharmacopée Européenne. 2014. Textes généraux et analyse statistique des résultats des dosages et essais biologiques. Conseil de l'Europe.
62. Pieri F, Kirkiacharian S. 1992. Pharmacologie et Thérapeutique. 2^{ème} édition Ellipses, p : 241.
63. Pradeau D. 1992. Analyse pratique des médicaments. Edition TEC et DOC, p : 1067.
64. Prescott LM, Harley JP, Klein DA, Willey JM, Sherwood LM. et Woolverton CJ. 2010. Microbiologie. 3^{ème} Edition De Boeck SA. Belgique, p : 1086.
65. Rahmani H. 2017. Contribution à l'étude phytochimique et valorisation de l'espèce Agave

- americana L. dans l'Ouest. Thèse de Doctorat. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Sidi Bel Abbes, Algérie .p :38 -100.
66. Raiffaud C. 2001. Produits « bio » De quelle qualité parle-t-on ? Educagri éditions, p : 183.
67. Roche, Y., & Niel, P. (2006). Analyses en microbiologie: Produits non stériles. Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation, (P3352).
68. Saroha K. 2013. Transdermal gels - An alternative vehicle for drug delivery, p : 496.
69. Schorderet M. 1989. Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques, Genève, pp : 20-537.
70. Sengupta, P., Chatterjee, B., et Tekade, R. K. (2018). Current regulatory requirements and practical approaches for stability analysis of pharmaceutical products: A comprehensive review. *International Journal of Pharmaceutics*, 543(1), 328-344.
71. Serhan CN, Ward PA et Gilroy DW. 2010. *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press, Londres, Grande Bretagne.
72. Shen Y, Smith RD. 2008. *Electrophoresis, Hight Performance Liquid Chromatography*. Édition Wiley-Interscience, Canada.
73. Siddiqui, M. R., AlOthman, Z. A., et Rahman, N. (2017). Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1409-S1421.
74. Sosa S, Altinier G, Politi M, Braca A, Morelli I, Della Loggia R. 2005. Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*, 12(4), 271-277.
75. Stora D. 2008. *Pharmacie et surveillance infirmière*. 5^{ème} Edition Wolters Kluwer, France, p : 372.
76. Swarbrick J, Lee G et Brom J. 1984. Drug permeation through human skin: Permeability of Ionizable compounds. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(5):1352.
77. Sweetman SC. 2009. *Martindale the Complete Drug Reference*. The Pharmaceutical Press, Chicago, USA.
78. Talbert M, Willoquet et Gervais R. 2009. *Le guide pharmaco clinique*. Wolters Kluwer, France, p : 1043.
79. Talbert M, Willoquet G. et Labayle D. 2001. *Guide pharmaco*, Edition Lamare, France, pp : 25-44.
80. Talbert M. 1998. *Le guide pharmaco clinique*. Wolters kluwer, France.
81. Wherlé P. 2007: *Pharmacie galénique : formulation et technologie pharmaceutique*, édition Maloine, France, p : 359.
82. Yacoub N, Laperche B. 2010. Stratégies des grandes firmes pharmaceutiques face aux médicaments génériques. *Innovations*, (2), 81-107.
83. Ziani F, Brahamia PB. 2012. La consommation de médicaments en Algérie entre croissance, financement et maîtrise. Actes de la journée d'étude «sciences sociales et santé en Algérie: cinquante ans après». Unité de recherche en sciences sociales et santé, Université d'Oran, Algérie.
84. Ziltener JL, Leal S et Fournier PE. 2010. Anti-inflammatoires non stéroïdiens en médecine du sport : utilité et controverses. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, 53 ; 278–288

Annexe 1

Préparation des milieux de culture pour le contrôle microbiologique

Milieux	Composition	Valeurs
Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja TSB	Peptone pancréatique de caséine	17,0 g
	Peptone papique de soja	3,0 g
	Chlorure de sodium	4,3 g
	Phosphate dipotassique	2,5 g
	Glucosemonohydraté	2,5 g
	Eau purifiée	1000 ml
Le pH est ajusté à 7,3 +/- 0,2 à 25°C avantstérilisation		
Solution tampon peptone au chlorure de sodium pH 7,0 TSE	Phosphate mono potassique	3,6 g
	Phosphate disodiquedihydraté	7,2 g
	Chlorure de sodium	4,3 g
	Peptone de viande ou de caséine	1,0 g
	Eau purifiée	1000 ml
Le mélange a été stérilisé à l'autoclave		
Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja TSA	Peptone pancréatique de caséine	15,0g
	Peptone papaique de soja	5,0 g
	Chlorure de sodium	5,0 g
	Gélose	1,0 g
	Eau purifiée	1000 ml
Le pH est ajusté à 7,3 +/- 0,2 à 25 °C avant stérilisation		
Milieu sabourauddextrosé-gélosé SDA	Dextrose	40,0 g
	Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine	10,0 g
	Gélose	15,0 g
	Eau purifiée	1000 ml
	Le pH est ajusté à 5,6 +/- 0,2 à 25 °C avant stérilisation	
Milieu gélose mannitol-sel	Peptone pancréatique de caséine	5,0 g
	Peptone peptique de tissu animal	5,0 g
	Extrait de viande de boeuf	1,0 g
	D-Mannitol	10,0 g
	Chlorure de sodium	75,0 g
	Gélose	15,0g
	Rouge de phénol	0,025 g
	Eau purifiée	1000 ml
Le pH est ajusté à 7,4 +/- 0,2 à 25°C avant stérilisation		
Milieu gélosé-cétrimide	Hydrolysate pancréatique de gélatine	20,0 g
	Chlorure de magnésium	1,4 g
	Sulfate dipotassique	10,0 g
	Cétrimide	0,3 g
	Gélose	13,6 g
	Glycérol	10,0 ml
	Eau purifiée	1000 ml
Le pH est ajusté à 7,2 +/- 0,2 à 25°C avant stérilisation		

Annexe 2

Préparation des solutions pour le contrôle physico-chimique

Réactifs	Préparation
Réactif au thioacétamide	Prélevez 1 ml d'un mélange composé de 5 ml d'eau R, de 15 ml d'hydroxyde de sodium 1m et de 20 ml de glycérol à 85 pour cent R , ajoutez 0,2 ml de solution de thioacétamideChauffez le mélange final dans un bain-marie pendant 20 minute
acidePerchlorique 0,1 M	Mélangez 900 ml d'acide acétique glacial R avec 8,5 ml d'acide perchlorique R et 30 ml d'anhydride acétique R compléter à 1000,0 ml avec de l'acide acétique glacial R .
eau exempte de dioxyde de carbone R	L'eau purifiée est bouillie pendant quelques minutes, puis refroidit et conservé à l'abri de l'air.
Solution tampon pH 3,5 R	Dissolvez 25,0g et 38,0 ml d'acide chlorhydrique d'acétate d'ammonium dans 25 ml d'eau purifiée, complétez à 100,0 ml avec de l'eau purifiée
Perchlorique (acide) 0,1 M	Prélevez8,5 ml d'acide perchlorique R et ajoutez 30 ml d'anhydride acétique, complétez le mélange à 1000,0 ml avec de l'eau purifiée.
Acide nitrique dilué	14,17 acides nitriques dans 100 ml de l'eau purifiée
Solution de phénolphtaléine	0,1 g de phénolphtaléine ont été dissoute dans 80 ml d'éthanol 96% et le mélange a été complété à 100 ml avec de l'eau purifiée
Acide chlorhydrique 0,1 M	100,0 ml d'acide chlorhydrique 1 M a été ajouté à 1000 ml avec de l'eau purifiée
Acide chlorhydrique 2M	Prélevez 206g d'acide chlorhydrique R et complétez à 1000 ml avec de l'eau purifiée
Nitrate d'argent R2	Prélevez 1,6g de nitrate d'argent et complétez à 1000 ml avec l'eau purifiée
Solution 5ppm de chlorure	Prélevez 0,824g de chlorure de sodium (NaCl) et complétez à 1000 ml avec de l'eau purifiée.
Solution à 10 ppm de sulfate	Dissolvez dans l'alcool à 30% (V/V) une quantité de sulfate dipotassique R correspond à 0,181g de K ₂ SO ₄ et complétez à 100 ml avec le même solvant, diluez 1/100 avec le même solvant
Solution à 20 ppm de fer	Dissolvez dans de l'eau une quantité de sulfate ferrique et d'ammonium R correspond à 0,863g de FeNH ₄ (SO ₄) ₂ .12H ₂ O, ajoutez 25 ml d'acide sulfurique dilué R et complétez à 500 ml de l'eau R diluez au 1/10 avec de l'eau
Solution d'iodure de potassium (IK)	Dissolvez 16,6g d'IK dans 100 ml de l'eau purifiée
Solution de thiosulfate de sodium (Na ₂ S ₂ O ₃) 0,1M	Dissolvez 26g de de thiosulfate de sodium et 0,2g de carbonate de sodium dans 1000ml de l'eau purifiée

Ammoniaque diluée R1	Prélevez 41g d'ammoniaque concentrée R et complétez à 100 ml avec de l'eau purifiée
Thiosulfate de sodium 8%	Dissolvez 8g de thiosulfate de sodium dans 100 ml de l'eau purifiée
Nitrate d'argent 0,1M	Dissolvez 17g de nitrate d'argent dans 1000 ml de l'eau purifiée.
Acide nitrique 1M	Dissolvez 96,6g d'acide nitrique dans 1000 ml de l'eau purifiée
Permanganate de potassium	Dissolvez Permanganate de potassium dans 100 ml de l'eau purifiée. Chauffez la solution au bain marie pendant 1h, laissez refroidir et filtrez avec un papier filtre
Solution à 10 ppm de plomb	Prélevez 1 ml de la solution 0,1% et complétez avec l'acide nitrique dilué.
Solution de chlorure de baryum R1	Solution à 61 g/l
Acide acétique	Prélevez 30 g d'acide acétique glacial R et complétez à 100 ml avec de l'eau purifiée
acide acétique 0,1 M	Prélevez 6g d'acide acétique glacial R et complétez à 1000 ml avec de l'eau purifiée Détermination du titre : à 25 ml de la solution d'acide acétique ajoutez 0,5 ml de solution de phénolphtaléine R et titrez par l'hydroxyde de sodium 0,1M
Acide citrique	Dissolvez 0,5g d'acide citrique dans 10 ml d'eau purifiée et ajoutez 0,1 ml d'acide Thio glycolique Mélangez alcalinisez avec de l'ammoniaque R et complétez à 20 ml avec de l'eau.il ne se développe pas de coloration.
Solution d'hydroxyde de sodium 0,1M	Prélevez 100 ml d'hydroxyde de sodium 1M et complétez à 1000 ml de l'eau exempte de dioxyde de carbone .Détermination du titre :titrez 20 ml de NaOH par l'acide chlorhydrique 0,1M.déterminez le point de fin titrage.
Solution diphénylamine	Dissolvez 1 g dans 1l de l'acide sulfurique. Conserver à l'abri de la lumière
Chlorure de potassium 0,1M	7,46 g de KCl dans 1000 ml de l'eau purifiée
Pyroantimoniate de potassium	1,3 g dans 100 ml d'eau purifiée
Bleu de bromothymol R1	Dissolvez 50 mg de bleu de bromothymol dans un mélange de 4 ml de l'hydroxyde de sodium 0,02 M et de 20 ml d'alcool et complétez à 100 ml avec l'eau purifiée.

Annexe 3

Résultats et calculs effectués pour le contrôle physico-chimique

1. Principe actif (Piroxicam)

▪ Calcule des cendres sulfuriques :

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

- CS : cendre sulfurique
- Pv : poids du creuset vide (g)
- Pf : poids final (g)
- Pe : poids de pris d'essai (g)

$$CS(\%) = \frac{28,0356 - 28,0352}{1,0744} \times 100 = 0,037\%$$

$$CS\%=0,037\%$$

▪ Dosage du principe actif :

$$T = \frac{V \times \text{constante} \times F}{Pe} \times 100$$

$$T = \frac{7,35 \times 33,14 \times 100 \times 1,0279}{251,3} = 99,63\%$$

$$T=99,63\%$$

2. Hydroxyde de sodium :

▪ Dosage de l'hydroxyde de sodium :

Teneur en NaOH :

Norme : 98,5-101,0

$$T = \frac{V \times \text{constante} \times F}{Pe} \times 100$$

$$T = \frac{45,5 \times 1,10512 \times 40}{2019,4} \times 100 = 99,59\%$$

$$T=99,59\%$$

Facteur de HCl :

$$F1 = \frac{1000,1}{17 \times 53} = 1,1099$$

$$F2 = \frac{1004,1}{17,2 \times 53} = 1,1014$$

$$F3 = \frac{1012,3}{17,3 \times 53} = 1,1040$$

$$F = F1 + F2 + F3 = 1,10512$$

3. Propylène glycol

▪ Densité :

$$D = \frac{Pp - Pv}{Pe - Pv}$$

- D : la densité ;
- Pp : poids du pycnomètre rempli de substance à examiner en gramme ;
- Pv : poids du pycnomètre vide en gramme ;
- Pe : poids du pycnomètre rempli de l'eau purifiée en gramme ;

$$D = \frac{29,1510 - 16,2643}{28,6736 - 16,2643} = 1,038$$

$$D=1,038$$

1. Produit fini : PRIXAM[®]

▪ Dosage par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultra-violet :

$$T\% = \frac{DOE}{DOT} \times \frac{PeT}{PeE} \times \frac{1}{5}$$

- T% : titre de Piroxicam dans le produit fini (%)
- DOE : densité optique de l'essai
- DOT : densité optique du témoin
- PeT : prise d'essai du témoin exprimée en mg
- PeE : prise d'essai exprimée en mg

Normes : 0,475% à 0,525%

$$T\% = \frac{0,4128}{0,4184} \times \frac{51,5}{500,5 \times 4} \times \frac{1}{5} = 0,5083\%$$

$$T=0,5083\%$$

2. Résultat et calcul effectuée pour le contrôle microbiologique :

$$\text{Nombre} \frac{d'UFC}{ml} = \frac{N1 + N2}{2}$$

La première boîte (N1) est égale à 19 colonies

La deuxième boîte (N2) est égale à 15 colonies

le nombre d'UFC totale est la moyenne calculée sur les deux boîtes :

$$\text{Nombre d'UFC/ml} = \frac{19 + 15}{2} = 17 \text{colonies}$$

$$\text{Nombre d'UFC /ml} = 17 \text{colonie}$$

