

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ DE JIJEL

Faculté Des Sciences Exactes et SNV
Département de biologie moléculaire et cellulaire



C9 13/09

Mémoire : DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur
d'Etat en Biologie

Option : Contrôle de Qualité et Analyses

20/9

Thème

**Le contrôle de la qualité des médicaments:
Les solutés injectables (Prixam 20mg,
Saïdal-Algérie)**



Présenté par :

Ould Bah Mohamed Lamine



Devant le jury composées de :

Président : D^r Boudjerda Djamel (Université de Jijel)
Rapporteur : D^r Lahouel Mesbah (Université de Jijel)
Examinatrice : M^{me} Tahiri Nacéra (Université de Jijel)

Promotion 2009

Remerciements

Je tiens en premier lieu à remercier DIEU de m'avoir donné la force et le courage pour réaliser ce travail.

Mes sincères remerciements vont également à :

Mon encadreur le Docteur LAHOUEL Mesbah ancien Chef Département Pharmaco-toxicologie à SAÏDAL, pour avoir accepté de diriger la réalisation de ce mémoire ainsi que pour son aide et ses précieux conseils.

J'assure mon profond respect aux membres du jury :

Docteur Boudjerda Djamel qui a accepté de présider ce jury de soutenance.

M^{me} Tahiri nacira qui a bien voulu examiner mon travail.

Le Docteur Zahouani Mohamed, directeur du laboratoire de pharmacotoxicologie et le Docteur Ferkioui Mohaed, directeur du CRD (Saïdal, Alger) pour leur accueil chaleureux au laboratoire sans oublier le temps qu'ils ont consacré pour mon encadrement.

Je tiens à adresser ma vive reconnaissance aux personnels des laboratoires : toxico-pharmacologie, de microbiologie et d'analytique du centre de recherche et développement de Saïdal, Alger.

Enfin, je tiens à remercier tous nos anciens enseignants des trois cycles, primaire, moyen et secondaire, ainsi que nos enseignants du département de biologie de l'université de Jijel, et tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.

Dédicaces

Avant toute dédicace, je remercie Dieu qui m'a donné le courage et la

Foi pour mener ce travail à terme,

A ceux qui ont fait sacrifier de leur noble existence pour bâtir la mienne,

qui par leurs précieux conseils et soutiens, ont su me guider vers la

réussite : à mes très chers parents, pour qui je porte un amour spécial

dans mon cœur, que Dieu me les garde.

A toute ma famille, grands et petits surtout mes grands parents.

A tous mes amis, et à toute la promotion 5^{ème} année Contrôle de

Qualité et Analyse de l'université de Jijel ; je leurs dédie à tous ce

travail en signe de ma profonde tendresse et ma sincère amitié.

Et à tous mes enseignants

Mohamed Lamine

Liste des abréviations

AC: articles conditionnement

ACCAS: assistant charge de la coordination des activités soutien

AFAQ : association française pour l'assurance qualité

AFNOR : association française de normalisation

ALU : aluminium

AMDEC : analyse des modes de défaillances et de leur criticité

AMM : autorisation de mise sur la marche

BPF : bonnes pratiques de fabrication

BPL : bonnes pratiques de laboratoires

CQ : contrôle qualité

CRD : centre de recherche et de développement

CSE : concentration standard d'endotoxine

DC : dénomination chimique

DCI : dénomination commune internationale

DCSMQ/AP : direction centrale du système management de la qualité et des affaires pharmaceutique

DL₀ : dose létale 0

DL₅₀ : dose létale 50

DMIM : direction marketing et information médicale

DMM : dose minimale mortelle

DO : densité optique

EY/ml : unité d'endotoxines par millilitre

GED : gestion électronique des documents

H.R : humidité relative

ISO : organisation internationale de normalisation

LAL : lysat d'amoebocyte de limule

MP : matières premières

MUI : million d'unités international

N : nombre

NMRI : navale médical reseearch institutes

ONAB : office national d'alimentation de bétail

ORL : oto-rhino-laryngologie

P.E : Pharmacopée Européenne

Pa : pascal

PC : poids corporel

PDCA: plan, do, check, Act

Ppm: parties par million

SCR : substance chimique de référence

SMQ : système management de la qualité

t: temps

TSA : trypticase soja

TSB : bouillon trypticase soja

UFC : unités formant colonies

UI : unité internationale

USP : united states pharmacopée

UV : ultra-violet

Sommaire

Sommaire

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

CHAPITRE I - Les médicaments

I -Le médicament et le médicament générique.....	2
I-1- Le médicament.....	2
I-2- le médicament générique.....	3
I-3- la conception et le développement d'un médicament générique	4
I-3-1- Etude de faisabilité	6
I-3-2- Pré-formulation.....	6
I-3-3 -Formulation.....	7
I-3-4 -Transposition à l'échelle pilote.....	7
I-3-5 -Transposition à l'échelle industrielle.....	7
I-3-6 -Dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché	8
I-3-7-La fabrication industrielle.....	9

CHAPITRE II - La qualité et l'assurance qualité

II- La qualité et l'assurance qualité	10
II-1- La qualité	10
II-2- L'assurance qualité	11
II-2-1- le personnel.....	13
II-2-2- Locaux et matériel	14
II-2-3- Documents.....	15
II-2-4- Le Contrôle	16
II-2-5- L'auto-inspection.....	17
II-2-6 -Organisation : maîtrise du circuit des produits	18
II-3- Le contrôle de la Qualité	21
II-4- Contrôle Qualité versus Assurance Qualité	22

CHAPITRE III - Matériel et méthodes

III- Matériel et Méthodes	23
III-1- Matériel.....	23
III-1-1- Matériel biologique.....	23
III-1-1-1- Présentation de l'espèce animale	23
III-1-1-2 - Conditions d'hébergement.....	24
III-1-1-3 - Régime alimentaire.....	24
III-1-2 - Matériel non biologique	24
III-1-2-1- Produits à tester.....	24
III-1-2-2 - Réactifs	24

III-1-2-3 - Appareillage.....	25
III-1-3 - Identification du produit et renseignements sur le produit.....	25
III-1-4 - Composition qualitative du produit.....	26
III-2- Méthodes	27
III-2-1- Zone de stockage des matières premières	27
III-2-2- Contrôle du soluté piroxicam injectable	27
III-2-2-1- Contrôle des matières premières utilisées dans la fabrication du piroxicam injectable	27
III-2-2-1-1- Contrôle physico-chimique	27
III-2-2-1-1-1- Contrôle du principe actif	27
III-2-2-1-1-2- Recherche des métaux lourds.....	30
III-2-2-1-1-3- Recherche des nitrates.....	31
III-2-2-1-1-4- Recherche des cendres sulfuriques.....	32
III-2-2-1-2- Le contrôle microbiologique	34
III-2-2-1-2-1- Essai de stérilité des ampoules injectables: Méthode de filtration sur membrane «Système stéri- test millipore»	35
III-2-2-1-2-2- Contrôle de la contamination du soluté par le test du Limulus Amoebocyte Lysat L.A.L	40
III-2-2-1-3- Le contrôle toxicologique.....	44
III-2-2-1-3-1- Etude de toxicité aiguë du prixam 20mg injectable.....	45
III-2-2-1-3-2- Etude de toxicité anormale du prixam 20mg injectable.....	48
III-2-2-1-3-3- Etude de toxicité sub-chronique du prixam 20mg Injectable.....	49
III-2-2-3-4- Etude de toxicité immunologique du prixam 20mg Injectable	50
III-2-2-1-4- Contrôle de l'isotonicité du Prixam 20mg injectable par le Test d'isotonicité.....	50
III-2-2-1-4-1 - Méthode détermination de l'isotonicité	51

CHAPITRE IV - Résultat et discussion

IV - Résultat et discussion.....	53
IV-1- Résultat et discussion du contrôle physico-chimique du prixam 20mg (matières Premières, articles de conditionnement et produit fini)	53
IV-2- Résultat et discussion du test de la toxicité aiguë	55
IV-3- Résultat et discussion de la toxicité anormale	56
IV-4- Résultat et discussion de l'isotonicité du prixam 20mg injectable:.....	56
IV-5- Résultat et discussion de l'apyrogénicité du prixam 20 mg et des excipients Liquides (eau distillée...) vérifiée par le Test au LAL	56
IV-6- Résultat et discussion du test de stérilité	57
Conclusion	58
Glossaire	61
Références Bibliographiques	62
Annexes	64

Introduction

INTRODUCTION

La qualité, concept général de dimension éthique et de conception polysémique, est devenue un objectif incontournable et fondamental pour réussir dans le climat économique du siècle.

L'histoire de la qualité est liée à celle de l'industrie. Longtemps limitée aux fonctions de production, la qualité est devenue, ces dernières années, un paramètre indispensable s'intégrant dans une vision systémique de l'entreprise.

En effet, la mise en place de démarches qualité dans l'industrie s'intéresse progressivement aux activités en amont de la production, notamment celles ayant trait à la conception de produits nouveaux.

La conception de produits nouveaux est une activité complexe consistant à traduire une perception de besoins latents et/ou exprimés en un produit support de services pour des utilisateurs définis. Associées à ces activités de conception, les démarches qualité assurent au produit final un ensemble de caractéristiques propres à satisfaire les besoins des utilisateurs.

Parmi ces démarches, la mise en œuvre de système d'assurance qualité, défini comme un ensemble organisé de dispositions préétablies, appliquées et vérifiées, garantit que chaque unité produite présente un degré de qualité requis pour son utilisation.

L'assurance qualité, exigence réglementaire dans le domaine pharmaceutique, est un large concept dont nous avons choisi d'étudier l'application lors de la conception et du développement d'un nouveau médicament générique: prixam®, forme injectable, au sein du Centre de Recherche et de Développement (CRD) du groupe SAIDAL, leader national dans son domaine d'activité.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes proposés de:

- Réaliser différents contrôles qualité à plusieurs niveaux de la conception du nouveau produit: Prixam®, 20mg/ml forme injectable.
- Evaluer le système d'assurance qualité du CRD afin de vérifier s'il garantit la conception de médicaments sûrs, efficaces et de qualité.

Chapitre I

Les médicaments

I - Le médicament et le médicament générique

I- 1- Le médicament [1]

Selon l'article 170 de la loi n°85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé : «On entend par médicament, toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger, modifier leurs fonctions organiques ».

Un médicament tel qu'il est présenté au malade est constitué par un ou plusieurs principe(s) actif(s), des substances auxiliaires ou excipients et des articles de conditionnement. Son effet thérapeutique est exclusivement dû au(x) principe(s) actif(s) entrant dans sa composition. L'addition des excipients est destinée à conférer au produit final une consistance donnée ou d'autres caractéristiques physiques ou gustatives particulières qui faciliteraient son administration. En effet la fonction principale d'un excipient est de servir de vecteur au principe actif sans inhiber ni augmenter son activité. Cette condition de neutralité doit également être remplie vis-à-vis du matériau de conditionnement et de l'organisme.

Les excipients utilisés en pharmacie sont extrêmement nombreux, ce qui s'explique, d'une part, par la diversité des caractéristiques physiques et chimiques des principes actifs dont ils doivent être les auxiliaires et d'autre part, par la variété des rôles qu'ils doivent remplir notamment :

- Faciliter la pénétration du principe actif et améliorer l'efficacité du médicament;
- Assurer la stabilité du médicament jusqu'à la date limite d'utilisation;
- Rendre le médicament plus maniable pour le patient... etc.

Le choix de la voie d'administration d'un médicament dépend de nombreux facteurs : la biodisponibilité du principe actif, la durée du traitement, le nombre de prises par jour ainsi que l'état du malade. Le choix de la forme galénique découle de celui de la voie d'administration (tableau 1).

Tableau 1: les différentes voies d'administration d'un médicament [2].

Voies	Formes galéniques principales
Orale	Comprimés, gélules, solutions ou suspensions aqueuses
Parentérale	Solutions aqueuses
Rectale	Suppositoires
Vaginale	Ovules, solutions aqueuses
Ophthalmique	Solutions aqueuses
ORL	Solutions aqueuses pulvérisées ou non
Percutanée	Pommades, solutions

Lorsque des recherches aboutissent à la création d'un nouveau médicament, ses inventeurs le font breveter pour avoir l'exclusivité de sa commercialisation et amortir son coût de recherche et de développement. Il porte dès lors, la dénomination de «médicament princeps» ou «médicament d'origine» ou encore «médicament de spécialité ». A l'expiration du brevet (10 à 20 ans en moyenne), une copie du produit original peut alors être développée et commercialisée par un autre laboratoire. On l'appelle « médicament générique ».

I-2- le médicament générique

Un médicament générique est la « copie» d'un médicament princeps dont la formule est tombée dans le domaine public suite à l'expiration du brevet ou suite à une crise sanitaire. Toutefois, sa forme galénique et ses excipients peuvent différer par rapport à ceux du médicament original, en respectant rigoureusement son efficacité et sa sécurité.

Lors de la fabrication d'un médicament générique, il incombe au fabricant de démontrer l'équivalence thérapeutique de sa copie et du médicament de référence (essais de bioéquivalence) et de garantir les mêmes propriétés de qualité et de sécurité que le médicament original. Le médicament générique est commercialisé à un prix inférieur à celui de la spécialité correspondante car son développement n'engage plus les longues et laborieuses investigations toxicologiques, pharmacologiques et cliniques préalablement réalisées lors du développement du médicament princeps [2].

On distingue 3 types de génériques :

✓ **La copie-copie:** c'est la copie conforme du médicament original (même principe actif, même dosage, même forme galénique, même excipients) parfois produite par le même laboratoire pharmaceutique.

✓ **Les médicaments essentiellement similaires :** ce sont des médicaments génériques ayant le(s) même(s) principe(s) actif(s), le même dosage, la même forme galénique mais au moins un excipient différent.

✓ **Les médicaments assimilables:** Leur forme galénique change (comprimé au lieu de gélule par exemple) ainsi que la forme chimique du principe actif (sel au lieu de base par exemple) [3].

I-3- la conception et le développement d'un médicament générique

Schématiquement, on peut considérer que le développement d'un médicament générique s'effectue en trois étapes : la conception, la validation industrielle puis la fabrication.

▪ Dans la première étape, le formulateur, en collaboration étroite avec l'analyste, met tout en œuvre à l'échelle laboratoire pour trouver la formule optimale du médicament et aboutir à un prototype conforme aux exigences réglementaires et normatives.

▪ Dans la seconde, l'objectif est de réaliser des essais de production à l'échelle industrielle afin d'ajuster le procédé de fabrication et de valider la formule du médicament.

▪ Lors de la troisième étape et sous réserve de la délivrance de l'AMM par l'autorité ministérielle compétente, le fabricant peut reproduire le médicament en quantité industrielle en veillant à ce que chaque unité ait le même niveau de qualité que le lot prototype qui a servi à obtenir l'AMM [4].

Le diagramme de la figure 1 résume les différentes phases de la conception et du développement d'un médicament générique:

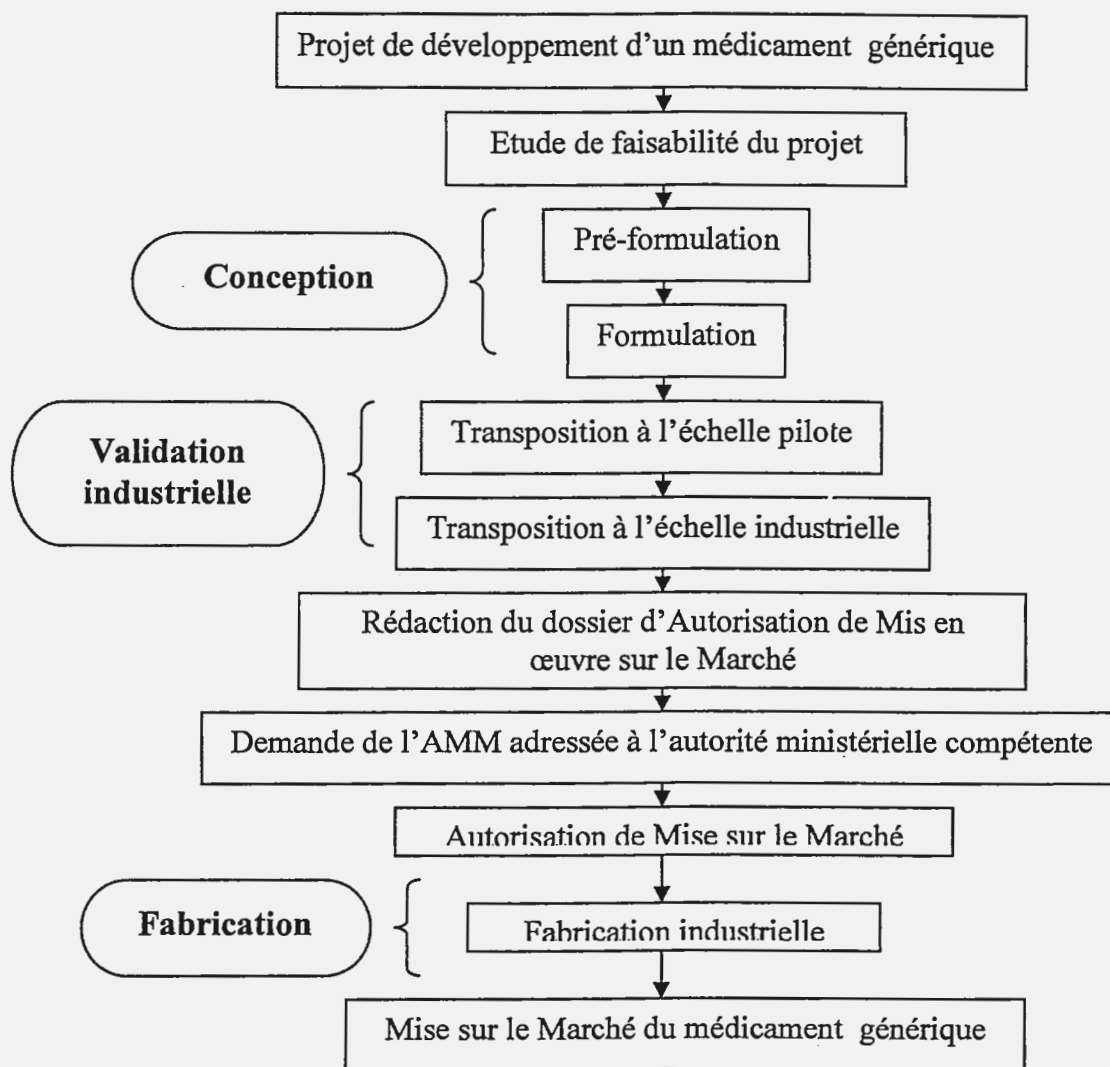


Figure 1. Phase de la conception et développement d'un médicament générique

I-3-1- Etude de faisabilité

Cette étude consiste à identifier les besoins en formation (qualification de l'équipe) et en moyens matériels (équipements, réactifs, étalons, matières premières...etc.) nécessaires au développement d'un projet, en l'occurrence le développement d'un nouveau médicament générique. Elle est réalisée sur la base des:

- Exigences des pharmacopées, BPF, BPL et autres données bibliographiques ;
- Exigences des clients (cahier des charges, délais... etc.) ;
- Exigences réglementaires (dossier d'AMM... etc.).

I-3-2- Pré-formulation

La phase de pré-formulation est une étape de recherche bibliographique dont le but est d'avoir une connaissance aussi complète que possible de la molécule active entrant dans la composition du médicament.

Tout au long de la conception d'un nouveau médicament générique, des choix sont à faire concernant la voie d'administration, la forme galénique, les excipients et les matériaux de conditionnement à utiliser, le procédé de fabrication, les méthodes de contrôle, les conditions de conservation... etc. Ces choix sont conditionnés par la connaissance préalable des propriétés du principe actif (tableau 2).

Tableau 2 : Propriétés du principe actif à connaître avant d'aborder la formulation [4].

Propriétés physico-chimiques	Devenir dans l'organisme
<u>Caractères Organoleptiques :</u> Aspect, couleur, odeur, goût.	<u>Pharmacocinétique :</u> Réparation, biotransformation, élimination
<u>Propriétés physiques :</u> Densité, solubilité (solvant-pH), absorbance...etc.	<u>Activité thérapeutique :</u> Lieu, mécanisme, effets secondaires.
<u>Propriétés chimiques :</u> Stabilité et incompatibilité (Δ , H_2O , O_2 ...etc.)	<u>Biodisponibilité :</u> Profil optimal

I-3-3- Formulation

C'est la phase durant laquelle le formulateur réalise des essais de formulation du médicament à l'échelle laboratoire en collaboration avec les analystes qui sont chargés de contrôler la qualité parallèlement à la réalisation. (contrôle qualité des matières premières, produits intermédiaires, vrac et finis).

Au fur et à mesure que les essais galéniques se succèdent et grâce aux résultats des contrôles en cours de formulation, le mode opératoire est peu à peu ajusté et la formule du médicament améliorée jusqu'à l'obtention d'un prototype conforme à ses spécifications.

I-3-4- Transposition à l'échelle pilote

La transposition pilote est une étape de transition entre l'échelle laboratoire et l'échelle industrielle. En effet, le passage à la production industrielle ne peut avoir lieu sans avoir préalablement validé la formule et le mode opératoire obtenus à l'issue de la phase de formulation.

Cette phase permet de mettre en évidence les éventuelles difficultés techniques ou technologiques ainsi que les paramètres critiques à maîtriser pour avoir un niveau de qualité égal à celui du prototype de formulation. Les lots pilotes produits servent entre autres à l'étude de la stabilité accélérée du produit et permettent de fixer une durée de validité provisoire.

I-3-5 -Transposition à l'échelle industrielle

Cette phase vise à confirmer la capacité de l'industrie à reproduire en série des produits conformes aux spécifications, dans le respect des procédés opératoires éventuellement adaptés pour contourner les difficultés techniques et technologiques.

Une première vérification du rapport de transposition industrielle est faite sur la base de la conformité des résultats de contrôle des lots fabriqués par rapport aux spécifications.

Une deuxième vérification est faite sur la base des résultats de l'étude de stabilité, permettant de confirmer une durée de validité définitive ainsi que les conditions de stockage et de conservation.

I-3-6 -Dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché

Le dossier complet d'une demande d'AMM dans le cas d'un médicament princeps comprend quatre parties:

- Un dossier pharmaceutique ;
- Un dossier toxicologique ;
- Un dossier pharmacologique ;
- Un dossier clinique.

Dans le cas d'un médicament générique, le dossier d'AMM comprend uniquement le dossier pharmaceutique car son développement est dispensé des essais toxicologiques, pharmacologiques et cliniques préalablement réalisés sur le médicament d'origine.

Le dossier pharmaceutique a pour objectif de définir le médicament de façon aussi précise et indiscutable que possible, à la fois par les contrôles effectués sur les différents produits (matières premières, articles de conditionnement, produits intermédiaires, vrac et finis.) et par les conditions de fabrication. Il est élaboré progressivement au cours des étapes successives de la conception et du développement du produit et comprend les éléments suivants:

- composition qualitative et quantitative ;
- description du process (le procédé de fabrication) ;
- contrôles à la réception des matières premières et articles de conditionnement. ;
- contrôles en cours de fabrication ;

- contrôles des produits finis ;
- description des conditions de conservation ;
- description du mode d'administration.

Chaque choix fait concernant la formulation, la fabrication, les contrôles, la conservation et la voie d'administration doit être justifié. Ces justifications reposent essentiellement sur les données de recherches antérieures faites sur le principe actif lors de l'étape de pré formulation [4].

I-3-7 -La fabrication industrielle

Une fois l'AMM obtenue, une production en série est mise en marche. Le fabricant devra être en mesure de certifier que chaque unité produite est conforme aux spécifications décrites dans Le dossier d'AMM, d'où la nécessité d'avoir un système qualité efficace qui garantit l'intégrité de chaque unité produite.

Chapitre II

Qualité et l'assurance qualité

II- La qualité et l'assurance qualité

II-1- La Qualité

En l'espace d'un demi-siècle, la définition de la qualité a évolué de façon marquante allant d'une approche restrictive de conformité à la satisfaction des exigences des clients. Cette satisfaction a couvert dans un premier temps les besoins explicites puis les besoins implicites. Les définitions successives de la qualité selon ISO témoignent de cette évolution:

- **ISO 9000 1982** : « Aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire, au moindre coût et dans les moindres délais, les besoins des utilisateurs. »
- **ISO 9000 1987** : « Ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou d'un service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites. »
- **ISO 9000 1994** : « Ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites. »
- **ISO 9000 2000** : « Aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences. »

L'importance de la qualité dans les entreprises est de plus en plus grande, l'industrie pharmaceutique fait partie de ces secteurs où la qualité des produits et de toutes les activités qui les entourent est primordiale.

De la notion « Qualité » découle la notion « Assurance Qualité », concept à application obligatoire dans le domaine pharmaceutique.

II-2- L'assurance qualité

C'est dans les domaines de pointe tels que l'aéronautique ou l'aérospatiale où une défaillance minime peut avoir des conséquences catastrophiques qu'est née la notion d'assurance qualité.

La norme ISO 8402 définit l'assurance qualité comme l'ensemble des activités préétablies et systématiques mises en oeuvre dans le cadre du système qualité, et démontrées en tant que besoin, pour donner la confiance appropriée à ce qu'une entité satisfera aux exigences pour la qualité.

L'Assurance Qualité repose sur un principe universel, le PDCA (Plan, Do, Check and Act) ou **roue de Deming** (figure 2 ci-après). Ce principe consiste à:

- **Ecrire ce que l'on doit faire:** Les règles générales d'organisation et de travail

ainsi que les procédures opératoires doivent être précises, simples et compréhensibles. Elles doivent exprimer les objectifs généraux à atteindre, la manière de les réaliser ainsi que la façon de vérifier les résultats.

- **Faire ce que l'on a écrit :** Appliquer à la lettre ce qui est énoncé dans les documents.
- **Vérifier que l'on fait ce que l'on a écrit :** Les audits qualité permettent dans un premier temps de vérifier que les règles préétablies sont correctement appliquées et dans un deuxième temps d'engager l'organisme dans un processus de mise en question, c'est à dire d'amélioration continue par l'engagement d'actions correctives effectives [5].



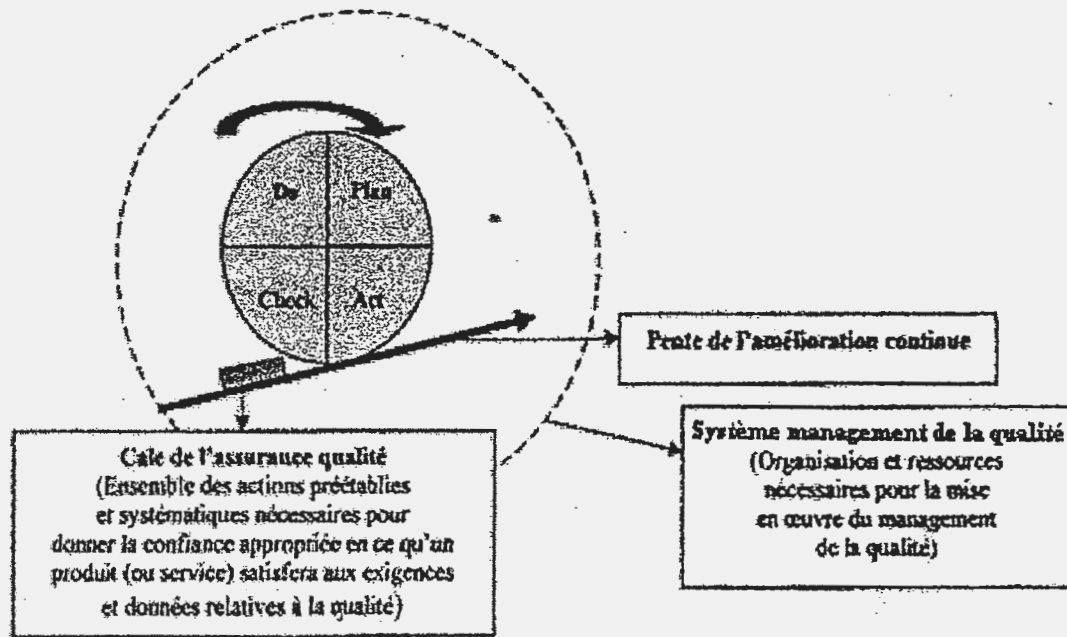


Figure 2. Schéma des principes de l'assurance qualité et du système management de la qualité –Roue de Déming [6].

L'Assurance Qualité est un large concept qui couvre tout ce qui peut, individuellement ou collectivement, influencer la qualité d'un produit. En industrie pharmaceutique, elle représente l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les médicaments fabriqués sont de la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés.

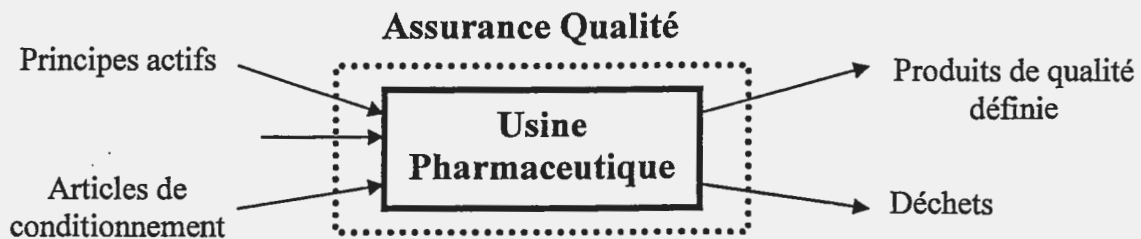


Figure 3. Représentation schématique d'une usine pharmaceutique [4].

Ce qu'il est important de noter, c'est que, en fabrication, l'assurance qualité n'a pas pour objectif d'améliorer la qualité du produit, elle a pour but de garantir un niveau de qualité préalablement défini en ne laissant plus la moindre place à l'erreur.

Si la mise en place d'un système d'assurance qualité réalise un progrès, c'est en garantissant une plus grande régularité et, par conséquent, une plus grande fiabilité.

En effet, si l'entreprise dispose d'un système d'assurance qualité bien conçu, correctement mis en oeuvre et efficacement contrôlé, elle pourra garantir la conformité au dossier d'AMM de chaque unité fabriquée.

Le diagramme (cause-effet) d'Ishikawa ci-après résume les éléments essentiels (les 6M) à maîtriser dans le cadre de l'assurance qualité.

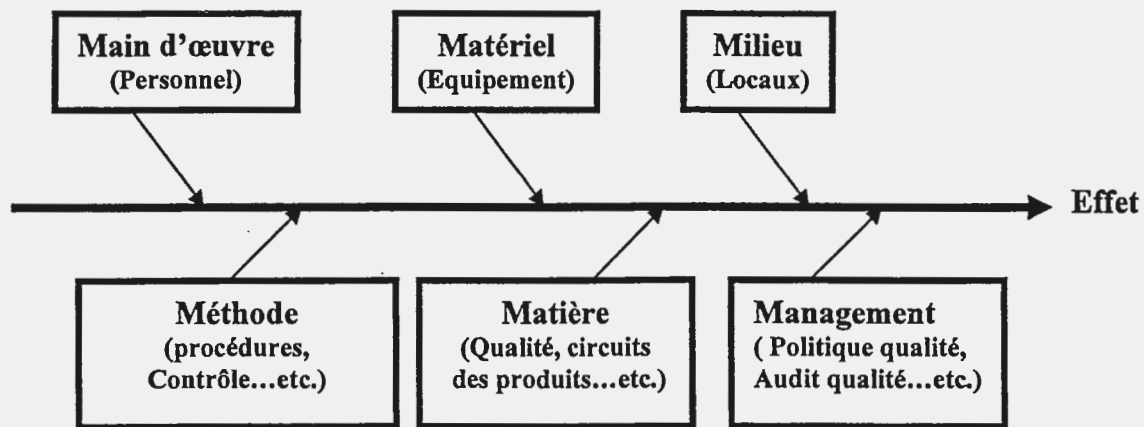


Figure 4. Diagramme (cause-effet) d'ISHIKAWA [7].

II-2-1-le personnel

La mise en place et le maintien d'un système d'assurance qualité efficace reposent sur la compétence, la disponibilité et l'implication de tout le personnel.

Ceci suppose:

- ❖ Une définition des tâches et une répartition rigoureuse des responsabilités individuelles: la direction générale doit définir sa politique qualité et s'engager à ce que cette politique soit comprise, mise en oeuvre et entretenue à tous les niveaux de l'entreprise; un organigramme de l'entreprise fixant les positions hiérarchiques doit être établi.

- ❖ Une formation appropriée aux tâches attribuées: en plus de la formation de base, théorique et pratique, adaptée à chaque poste. Il est exigé que le personnel reçoit une formation sur le concept d'assurance qualité et sur les bonnes pratiques de fabrication.
- ❖ Une sensibilisation et une motivation entretenue par l'information et la communication [8].

II-2-2- Locaux et matériel

Les locaux et le matériel doivent être situés, conçus, construits, adaptés et entretenus de façon à convenir au mieux aux opérations à effectuer et à éviter toute atteinte à la qualité des produits. Leur conception et leur utilisation doivent tendre d'une part à minimiser les risques d'erreur et d'autre part à permettre un nettoyage et un entretien faciles en vue de prévenir les contaminations de toutes sortes y compris les contaminations croisées entre médicaments.

Selon le bulletin officiel N° 2007 /1 bis, de l'agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé, énonçant les bonnes pratiques de fabrication des médicaments, les moyens à mettre en œuvre pour répondre à ces deux préoccupations sont:

- Une conception des locaux telle qu'elle permet une maîtrise aisée du flux matière, notamment des zones de stockage qui doivent être de taille suffisante pour faciliter un stockage ordonné des différentes catégories de produits : matières premières et articles de conditionnement, produits intermédiaires, vrac et finis.
- Une sectorisation en fonction des risques avec contrôle d'accès.
- La réservation de locaux pour la production de médicaments particuliers, (comme certains antibiotiques, certaines hormones, et certains médicaments hautement actifs)

- Le contrôle de l'éclairage, la température, l'humidité et la ventilation.
- Un nettoyage et un entretien du matériel parfaitement maîtrisé.
- La qualification des équipements ; Le matériel de mesure, de pesée, et de contrôle doit être étalonné et vérifié à intervalles réguliers et par des méthodes appropriées. Un étiquetage clair doit être prévu à cet effet. Les comptes rendus de ces contrôles doivent être conservés.
- La validation des procédés.

II-2-3- Document

Un système d'assurance qualité ne peut se concevoir sans le support d'une documentation rigoureusement gérée. Elle permet de garantir la traçabilité, d'éviter les risques de la transmission orale, et de faciliter le dialogue entre cadres et exécutants.

De plus la documentation constitue une base pour la formation du personnel.

On distingue deux types de documents écrits:

➤ **Les instructions écrites** ou procédures dont le rôle est de donner des instructions précises pour la production et le contrôle. Exemples: procédure d'échantillonnage, procédure de contrôle de la matière première, formule de fabrication, instruction de conditionnement . . . etc.

➤ **Les recueils de données** dont le but est de recueillir toutes les informations sur les opérations en cours de production et de contrôle. Ils retracent l'historique de chaque lot de produit. Exemples : relevés, compte rendus ou enregistrements [9].

Dans une entreprise pharmaceutique, les documents sont hiérarchisés selon le modèle suivant:

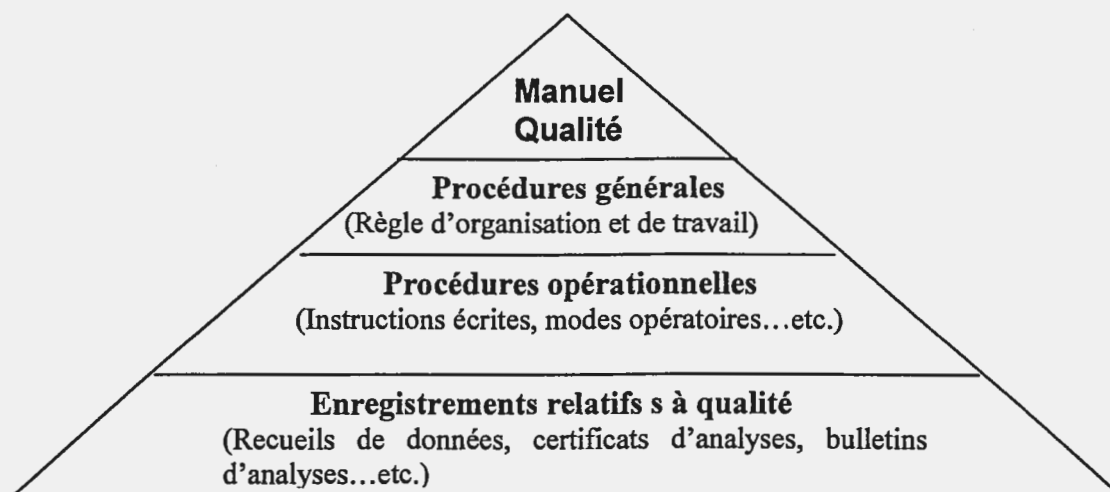


Figure 5. Pyramides du système documentaire [6].

La gestion informatisée des documents offre beaucoup d'avantages, notamment la facilité d'accès aux procédures et aux données ainsi qu'un archivage moins encombrant et plus sécurisé. La transposition à un système informatisé est toujours possible à condition d'être validée [9].

II-2-4 - Le Contrôle

Le terme « contrôle » est plus utilisé dans le sens de vérification que dans celui de maîtrise. Le contrôle consiste donc à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et à comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies en vue de vérifier à quel point les exigences sont satisfaites.

Pour un médicament, il s'agit souvent de la vérification de la conformité à des exigences figurant dans le dossier d'AMM ou dans la pharmacopée, cette vérification étant généralement suivie d'un tri entre entités conformes et non conformes. Un système d'assurance qualité dont l'objectif est de ne plus laisser la moindre place à l'erreur exige des contrôles à tous les niveaux, notamment:

- La surveillance médicale du personnel. ;
- La qualification des équipements et la validation des procédés ;

- Le contrôle de la charge microbienne du matériel et de l'environnement ;
- Le contrôle à la réception des matières premières ;
- Le contrôle en cours de fabrication ;
- Le contrôle du produit fini avant expédition ;
- Le contrôle du système lui-même, (Auto-inspection).

L'appellation «Contrôle Qualité» est plus adaptée lorsqu'il s'agit de vérifier la conformité aux exigences d'un produit: matière première, article de conditionnement, produit intermédiaire, vrac ou fini...etc. [9].

II-2-5 -L'auto-inspection

Il s'agit d'une inspection interne qui peut porter sur tout ou partie du système d'assurance qualité (ligne de fabrication, gestion des documents, circuit d'un lot... etc...). Elle a pour objectifs de:

- S'assurer du respect des bonnes pratiques de fabrication (voir annexe) ;
- Vérifier le bon fonctionnement et l'efficacité du système d'assurance qualité;
- Proposer des mesures correctives et des améliorations.

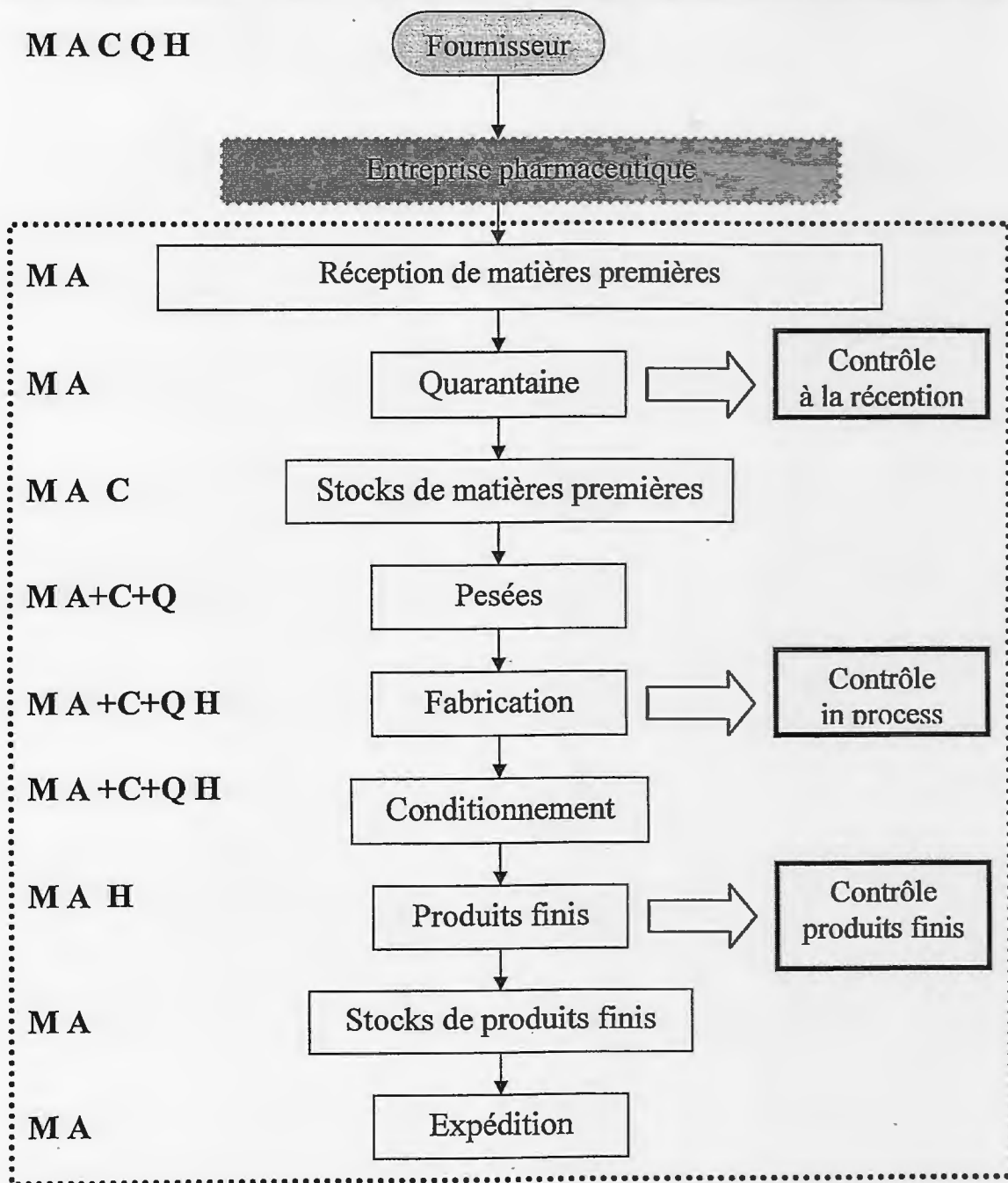
Les auto-inspections sont effectuées par un petit groupe de personnes compétentes, périodiquement ou suite à un incident ou réclamation. Chaque auto-inspection fait l'objet d'un compte rendu contenant toutes les observations faites ainsi que l'ensemble des propositions de mesures correctives.

L'expression « auto-inspection » est de moins en moins utilisée. Actuellement, on parle plus d' «**audit qualité interne** ». Des audits indépendants effectués par des experts externes peuvent également s'avérer utiles. Il s'agira dans ce cas d' « **audit qualité externe** » [9].

II-2-6- Organisation : maîtrise du circuit des produits

L'assurance qualité couvre toutes les activités de production et de contrôle depuis l'achat des matières premières jusqu'à la distribution du produit fini. Un système assurance qualité correctement mis en oeuvre devrait permettre de maîtriser les risques liés au flux matière de telle sorte à éviter tout dysfonctionnement susceptible de nuire à la qualité du produit. En effet, la grande préoccupation durant le transfert de matière est d'éviter toutes les dérives susceptibles de conduire à des défauts: omissions, erreurs opératoires, contaminations, altérations...etc.

La figure 6 ci-dessous donne l'ordre le plus classique du flux matière dans une entreprise pharmaceutique en précisant la nature des risques les plus fréquents à chacune de ses étapes. Elle peut servir de fil conducteur pour la mise en place de mesures préventives.



A = Altération physiques et chimiques

M = Mélanges et confusions

C = Contamination physiques et chimiques

Q = Erreurs quantitative

H = Hétérogénéité

Figure 6. Le transfert de matière dans une entreprise pharmaceutique [4].

Remarques:

1 - Les mélanges et confusions (M) sont à craindre à toutes les étapes du flux matière.

2 - Les altérations (A) et les contaminations (C) sont à craindre surtout lorsque les produits sont à l'air libre, au moment des prélèvements et en cours de traitement.

3 - Les erreurs quantitatives (Q) apparaissent surtout au cours des pesées et dans les ateliers de fabrication et de conditionnement.

4 - L'hétérogénéité (H) des lots enlève toute fiabilité aux contrôles effectués sur les échantillons de matières premières, produits intermédiaires, vrac ou finis.

5 - La détection précoce d'une anomalie dans le flux matière permet de minimiser les risques de pertes.

Avec un système assurance qualité bien conçu, un fabricant arrive à maîtriser globalement le processus de fabrication, mais il reste dépendant du système qualité du fournisseur en ce qui concerne les matières premières (principes actifs, excipients, articles de conditionnement) et autres types de fournitures dont la qualité peut avoir indirectement une influence sur celle du médicament (solvants, réactifs, étalons, .. etc.). Le contrôle à la réception ne garantit pas une sécurité absolue car le contrôle sur échantillon n'a de sens que si la livraison est homogène.

Les actions à mettre en oeuvre afin de disposer de fournitures de qualité définie et constante sont:

- Définir des critères de sélection et d'agrément des fournisseurs.
- Notifier au fournisseur les spécifications de chaque matière première dans un cahier des charges.
- Auditer le fournisseur pour s'assurer de ses conditions de fabrication et l'évaluer à chaque livraison: respect des délais, qualité du service, qualité de la marchandise... etc.
- Avoir l'assurance du fournisseur que tout changement dans le procédé de fabrication soit signalé. Ces mesures sont également recommandées en cas de sous-traitance d'une analyse ou de toute une phase du développement.

II-3-Le contrôle de la Qualité

Le « contrôle » est un terme général qui englobe toutes les vérifications qui se font sur une entité quelle que soit son origine (Matière, Matériel, Méthode, Milieu, Main d'oeuvre ou Management) afin de démontrer sa conformité par rapport à des spécifications préétablies. Exemple: contrôle du produit fini, qualification des équipements, validation des procédés, contrôle des paramètres atmosphériques, surveillance médicale du personnel, contrôle du système qualité...etc.

En entreprise pharmaceutique, l'expression « Contrôle Qualité » est utilisée lorsqu'il s'agit de vérifier la conformité aux exigences d'un produit: matière première, article de conditionnement, produit intermédiaire, vrac ou fini.

Le principe du contrôle qualité est de certifier que les matières premières, les articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, la vente ou l'approvisionnement avant que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante.

Selon le bulletin officiel N° 2007 /1 bis de [9], énonçant les bonnes pratiques de fabrication des médicaments, les exigences fondamentales du contrôle qualité sont :

➤ Des installations adéquates, du personnel formé et des procédures agréées sont disponibles pour l'échantillonnage, le contrôle et l'analyse des matières premières, des articles de conditionnement, des produits intermédiaires, vrac et finis.

➤ Des échantillons des matières premières, des articles de conditionnement, des produits intermédiaires, vrac et finis sont prélevés, selon des méthodes approuvées, par le personnel du contrôle de la qualité.

➤ Les méthodes de contrôle sont validées.

➤ Des relevés sont établis prouvant que les procédures requises pour l'échantillonnage, le contrôle et l'analyse sont effectivement appliqués. Toutes les déviations sont enregistrées de façon détaillée et examinées.

➤ Les produits finis contiennent les principes actifs prévus dans la formule qualitative et quantitative de l'autorisation de mise sur le marché, ils ont la pureté requise, sont contenus dans l'emballage correct et sont correctement étiquetés.

➤ Des relevés sont établis à partir des résultats des contrôles des matières

premières, des articles de conditionnement, des produits intermédiaires, vrac et finis en vue d'être comparés aux spécifications.

➤ Aucun lot de produit n'est libéré pour la vente ou la distribution avant que le pharmacien responsable n'ait certifié qu'il répond aux exigences de l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM).

➤ Des échantillons de référence des matières premières et des produits sont conservés en quantité suffisante pour permettre un contrôle ultérieur si nécessaire.

Le contrôle qualité ne se limite donc pas aux activités de laboratoire, mais doit participer à toutes les décisions qui peuvent concerner la qualité du produit.

II-4- Contrôle Qualité versus Assurance Qualité

Selon les travaux de Piriou [10]. Les différences entre assurance qualité et contrôle qualité peuvent être résumées ainsi :

CONTROLE QUALITE

- ❖ Activité dont la mission est essentiellement d'accepter ou de refuser pour l'usage prévu le produit que l'on vient de contrôler, c'est à dire vérifier qu'il est conforme à ses spécifications.
- ❖ Le contrôle se préoccupe du présent : un lot a été produit et on doit vérifier qu'il est conforme aux normes, que le dossier de fabrication et les contrôles sont complets et satisfaisants.

ASSURANCE QUALITE

- ❖ C'est un système complet qui englobe toutes les activités de l'entreprise en vue de prévoir, de mettre en œuvre, d'améliorer les conditions de production et de garantir la qualité du produit.
- ❖ L'Assurance Qualité est ce que l'on fait pour que dans le futur, le produit soit de la qualité prévue. Elle vise à rechercher les failles éventuelles et à améliorer la mise à jour de l'ensemble des pratiques et procédures de production et de contrôle.

Chapitre III

Matériel et méthodes

III- Matériel et Méthodes

Notre présente étude a été effectuée au niveau du centre de recherche et développement (CRD) et de l'unité antibiotiques (Médéa) de l'entreprise Saïdal.

Cette étude a pour but :

❖ D'apprendre et maîtriser les méthodes du contrôle de la qualité à travers l'application des règles de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et de Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) dans le domaine pharmaceutique.

❖ Et de contrôler la conformité et l'innocuité des formes pharmaceutiques injectables: Le Piroxicam injectable Saïdal, Algérie (Prixam 20mg).

Le contrôle de la qualité a été effectué selon [11] et les monographies internes du laboratoire de contrôle de la qualité. Il comporte des contrôles physico-chimique, microbiologique et toxicologique:

- Des matières premières
- Des articles de conditionnement
- Du produit fini

III-1- Matériel

III-1-1- Matériel biologique:

III-1-1 -1- Présentation de l'espèce animale:

Les animaux utilisés dans notre étude sont :

Espèce : souris Albinos

- Race : NMRI
- Poids moyen : 20 ± 2 g
- Origine : élevage CRD SAIDAL
- Sexe : male et femelle

III-1-1-2- Conditions d'hébergement

- Température : 22 °C à 24 °C
- L'éclairage artificiel : 10 heures
- L'humidité : 55 ± 10 %

III-1-1-3- Régime alimentaire

Les animaux sont nourris par une alimentation granulée équilibrée fournie par l'O.N.A.B dont la composition est la suivante:

- Glucide : 49,80%
- Protides : 23,5%
- Complexe minérales vitamines 5,7%
- Lipides : 5%
- Boisson : eau de robinet (*Voir annexe tableau 8*)

III-1-2- Matériel non biologique**III-1-2-1- Produits à tester**

- Matière première piroxicam DCI
- Produit fini/ml: prixam ® à 20mg/ml

III- 1-2-2- Réactifs

- Eau physiologique
- HCl, NaOH
- Endotoxine standard de contrôle (CSE)
- Lysat lyophilisé (sous forme déshydraté) en flacon de 5,2ml à deux sensibilités 0,06 EU/ 0.125EU/ml
- Eau pour LAL : en utilisant des flacons dépyrogénés prélevés directement du distillateur en service
- Reconstitution du lysat de l'endotoxine et des dilutions ou bien utiliser l'eau apyrogène en ampoules destinée aux injections.

III-1-2-3- Appareillage

- Balance pour animaux « Sertorius 611 B020070000 » (pèse souris)
- Balance analytique de précision (pour la matière première)
- Centrifugeuse « MUCLP008 »
- Agitateur (Vortex)
- Bain Marie « MU-CLP-0i 0»
- Hotte à flux d'air laminaire.
- Four chauffant jusqu'à 180 °C ou 250°C.

III-1-3- Identification du produit et renseignements sur le produit [11].

Dénomination commune international (D.C.I) : Piroxicam

Nom de la (des) spécialité(s) de référence : Feldène®

Forme pharmaceutique: Solution injectable

Classe thérapeutique : Anti-inflammatoire non stéroïdien

Voie d'administration: Voie intramusculaire

Dosage: 20 mg/ampoule

Conditionnement primaire: Ampoule en verre

Conditionnement secondaire: Boite en carton

III-1-4- Tableau 3. Composition qualitative du produit.

Matière primaire	Pharmacopée
Piroxicam principe actif	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
P.F Piroxicam Ampoule 20 mg/ampoule	Non Monographie
EXCIPIENTS	
ALCOOL BENZYLIQUE	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
DIHYDRO GENE PHOSPHATE DE SODIUM DE-HYDRATE	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
NICOTAMIDE	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
PROPYLENGLYCOL	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
ETHANOL	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
HYDROXYDE DESODIUM	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
ACIDE CHLORHYDRIQUE	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
EAU POUR PREPARATION INJECTABLE	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
ARTICLE DE CONTIENNEMENT	Pharmacopée européenne 2002/U.S.P2002
AMPOULE EN VERRE	Généralité Pharmacopée européenne 2002

Pour le contrôle des excipients voir les tableaux 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,17 (annexe)

III-2- Méthodes**III-2-1- Zone de stockage des matières premières**

La réglementation exige que les matières premières doivent être conservées dans leurs emballages originaux. Elles doivent être correctement étiquetées portant au moins les informations suivantes :

- Le nom utilisé dans l'établissement pour le produit et le cas échéant, le code interne
- Un numéro de lot attribué lors de la réception.

- Le statut de contenu (par exemple en quarantaine, en cours d'analyse accepté, refusé).
- Le cas échéant, la date de péremption ou une date après laquelle un nouveau contrôle s'impose.

La stabilité des préparations pharmaceutique dépend à la fois des conditions de leurs stockage : température, humidité, la lumière et des caractères intrinsèque du produit.

III-2-2-Contrôle du soluté piroxicam injectable**III-2-2-1-Contrôle des matières premières utilisées dans la fabrication du piroxicam injectable****III-2-2-1-1- Contrôle physico-chimique****III-2-2-1-1-1- Contrôle du principe actif**

Le contrôle du principe actif piroxicam est identifié par spectrométrie infrarouge et par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Le contrôle de la pureté est complété par la recherche des métaux lourds et par la perte à la dessiccation. Le Piroxicam contient un principe actif : Piroxicam (D.C. I.).

Il présente les caractéristiques suivantes :

Teneur: 98.5 pourcent à 100 pourcent (substance desséchée)

Caractère et Aspect: poudre cristalline blanche ou légèrement jaune

Solubilité: pratiquement insoluble dans l'eau mais soluble dans le chlorure de méthylène. Le piroxicam présente le phénomène du polymorphisme.

a) Identification par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge

Nous avons examiné le standard (SCR) et l'essai par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge. Le spectrophotomètre utilisé pour l'enregistrement de spectres comprend une source de lumière appropriée, un monochromateur ou un interféromètre, et un détecteur. Le spectre est généralement présenté en fonction de la transmittance, c'est-à-dire le rapport de l'intensité du rayonnement transmis à celle du rayonnement incident, comme il peut être présenté également en fonction de l'absorbance.

Préparation de l'échantillon

Nous avons préparé notre échantillon (essai) en triturant une quantité de piroxicam (1 mesure) à l'aide d'une spatule avec 9 mesures de bromure de potassium en poudre dans un creuset en porcelaine. Ensuite le mélange est broyé soigneusement puis étendu uniformément dans une matrice spéciale est soumise à une pression pour déshydratation. Plusieurs facteurs comme un broyage insuffisant ou excessif, l'humidité ou d'autres impuretés peuvent provoquer la formation de pastilles imparfaites. La pastille sera rejetée si un examen visuel révèle un manque d'uniformité ou de la transparence.

Examination par spectrophotométrie d'absorption dans l'IR

Les substances sous forme de pastilles à base de bromure de potassium (KBr), sont examinées par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge. La lecture se fait par comparaison des spectres obtenus avec le standard et l'essai.

Si les spectres obtenus à l'état solide présentent des différences, dissolvez séparément la substance de chlorure de méthylène à examiner ; c'est la substance de

Si les spectres obtenus à l'état solide présentent des différences, dissolvez séparément la substance de chlorure de méthylène à examiner ; c'est la substance de référence dans un volume minimal de chlorure de méthylène®. Evaporez à siccité au bain -marie et enregistrez les nouveaux spectres à partir des Préparations de pastilles à base de bromure de potassium® et comparaison avec du piroxicam référence.

b) Essai des substances apparentes par chromatographie liquide HPLC;

Solution à examiner (a)

Dissolvez 75mg de piroxicam dans de l'acétonirité® en chauffant légèrement si nécessaire et complétez à 50.0ml avec le même solvant.

Préparation de solution standard témoin (a)

Solution témoin (b)

Prélevez 1ml de solution à examiner et complétez à 10ml avec de l'acétonirité® puis prélevez 1ml de cette solution et complétez à 50 ml avec l'acétonitrile.

Colonne

Dimension: t: 0.25 ϕ : 4.6m

Phase stationnaire: gel de silice acetady/silylé pour (5 μ m) température: 40C⁰

Phase mobile : mélangez 40 volume d'acétonitrile^R et volume d'une solution de phosphate mono potassique^R à 6.8g/l . Ajustez à pH 3 avec de l'acide phosphorique^R .

Débit: 1ml/minute

Détection: spectrophotomètre, à 230nm

Injection: 20 μ l

Enregistrement: 5fois le temps de rétention du piroxicam,

Conformité du système: solution témoin (a)

Rétention relative par rapport au piroxicam

Impureté B: environ 0.85

Facteur de symétrie: au maximum 1.5 pour le pic du à l'impureté B

Chromatogramme obtenu est semblable au chromatogramme fourni avec piroxicam pour conformité du système SCR.

Chaque impureté au maximum de la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec de solution témoin est de 0.2%.

Total : au maximum 2fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec solution témoin (b) c'est-à-dire égale à 0.4%

Limite d'exclusion: la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution serait de 0.02%.

III-2-2-1-1-2- Recherche des métaux lourds

Selon les monographies, un maximum de 20ppm de plomb (Pb) pour 1g de piroxicam satisfait à l'essai.

Ainsi, préparez la solution témoin avec 2ml de solution à 10ppm de plomb (Pb). La perte à la dessiccation est au maximum 0.5 déterminée sous vide à 105C° pendant 4h sur 1g de piroxicam.

Pour la solution à examiner, est traitée dans un creuset de silice. Pour cela, nous introduisons la prise d'essai prescrite (au maximum 2g de substance à examiner) et 4ml de sulfate de magnésium[®] à 250g/l dans l'acide sulfurique dilué[®]. Après trituration à l'aide fine baguette de verre, le mélange est chauffé avec précaution (si le mélange est liquide évaporez doucement au bain -marie) jusqu'à obtention d'un résidu sec.

La chauffe est ensuite maintenue progressivement jusqu'à carbonisation et obtention d'une cendre pratiquement blanche ou au plus grisâtre, la température ne dépassant pas 800C°.

Le résidu est enfin humecté avec quelques gouttes d'acide sulfurique dilué puis évaporé et calciné de nouveau.

On laisse refroidir pour une durée totale ne dépassant pas 2h, ensuite le résidu est repris par 5ml d'acide chlorhydrique dilué et 0.1 ml de solution de phénolphtaléine puis l'ammoniaque concentrée jusqu'à coloration rose.

Après refroidissement, nous avons ajouté de l'acide acétique glacial jusqu'à décoloration puis 0.5ml en excès si nécessaire. Enfin, après filtration et lavage le volume est complété à préposition 20ml avec l'eau.

Pour la solution témoin nous procédons comme il est décrit pour la solution à examiner, en utilisant le volume prescrit de solution à 10ppm de plomb au lieu de la substance à examiner. Alors, 10ml des 20ml obtenus sont prélevés puis additionnés de 2ml de solution à examiner.

La solution de contrôle nous procédons comme il est décrit pour la solution à examiner en lui ajoutant le volume de solution à 10ppm de plomb prescrit pour la solution témoin. Ainsi, prélever 10ml des 20ml obtenus et ajoutez 2ml du solution à examiner.

Pour la solution blanc, on mélange 10ml d'eau et 2ml de solution à examiner à 12ml de chaque solution puis on ajoute 2ml de solution tampon pH 3.5. Après ajout de 1.2ml de réactif au thio-acétamide les solutions sont examinées immédiatement après 2 minutes.

L'essai n'est valable que si la solution témoin montre une légère coloration brune comparée à la solution blanc et si la solution contrôle et au moins aussi intense que la solution témoin.

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

Si le résultat de l'essai est difficile à évaluer, les solutions seront filtrées sur un filtre membrane (diamètre des pores 3 μ m) en effectuant la filtration lentement et régulièrement par pression modérée et constate sur le piston. Les taches obtenues sur les filtres sont comparées avec les différentes solutions.

III-2-2-1-1-3- Recherche des nitrates

A 1ml d'échantillon d'eau distillée sont ajoutés 0.4ml de chlorure de potassium à 100 g/l, 0.1 ml de diphénylamine et 5 ml d'acide sulfurique. Les tubes sont placés à 50 °C.

Un témoin est préparé dans les mêmes conditions en mélangeant 0.5 ml d'une solution de nitrate (NO₃) à 2ppm avec 4.5 ml d'eau exempt de nitrates.

L'intensité de couleur des deux solutions est comparée après 15 minutes d'incubation (témoin et solution à examiner).

III-2-2-1-1- 4- Recherche des cendres sulfuriques

La réglementation fixe un maximum de 0.1 pour 1g de piroxicam. Ainsi, nous dissolvons 0.25g de piroxicam dans 60 ml d'une mélange à volume égal d'anhydride acétique® et acide acétique anhydre®. La titration est effectuée par l'acide perchlorique 0.1M et détermination du point de titrage par potentiomètre sachant que 1ml d'acide perchlorique 0.1M correspond à 33.14g de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ (Conservation en récipient étanche à l'abri de lumière).

Réalisation de l'essai

Chauffez un creuset approprié (de platine) à 600C° pendant 30 minutes puis pesez.

Dans le creuset, nous introduisons la prise d'essai puis nous effectuons une 2^{ème} pesée du creuset.

Humectez la substance à examiner avec 1 ml d'acide sulfurique® puis chauffez doucement à une température aussi faible que possible jusqu'à carbonisations complètes des échantillons. Après refroidissement le résidu est humecté avec 1 ml d'acide sulfurique.

Maintenez la chauffe doucement jusqu'à ce qu'il n'y ait plus dégagement de fumée blanche puis calcinez à 600 C° jusqu'à incération complète du résidu. Laissez refroidir le creuset dans un dessiccateur sur du gel de silice ou autre desséchant approprié, puis on pèse à nouveau en calculant le pourcentage de résidu.

Si la quantité ainsi obtenue dépasse la limite indiquée il faut répéter l'addition d'acide sulfurique puis la calcination comme précédemment pendant une période de 30 minutes jusqu'à ce que deux pesées ne soient différentes de plus de 0.5mg ou que le pourcentage de résidu soit conforme à la limite prescrite.

La quantité de substance utilisée pour l'essai (habituellement 1-2mg) est choisie de façon à obtenir à la limite prescrite, un résidu (habituellement de l'ordre 1mg) qui peut être pesé avec une exactitude suffisante.

Perte à la dessiccation

Pèse creuset vide: 28.45g $T = (\text{pèse initial} - \text{pèse final} / \text{prise d'essai}) * 100$

Pèse MP : 1.0016g

Entre pendant 4h à 105C°

Après dessiccation: 20.457g $(28.459 + 1.0016) - 29.957 / 1 = 0.43\% \leq 0.5\%$

conforme

III-2-2-1-2- Le contrôle microbiologique

Le but du contrôle microbiologique est de contrôler la stérilité des matières premières (eau distillée, principe actif...etc), des ampoules injectables, poches et flacons à usage parentéral, ne possédant pas une activité microbienne.

Elle a été réalisée grâce à deux tests ; par méthode de filtration sur membrane ou « Système steritest millipore » et le test au L.A.L.

En effet, Le niveau de contamination acceptable d'un produit médicamenteux dépend de la forme pharmaceutique et du mode d'administration et ainsi:

- Aucune contamination n'est admise pour les formes stériles, préparations injectables et préparations ophtalmiques.
- La contamination est acceptable mais limitée pour les formes non stériles destinées à la voie orale, la peau et autre muqueuse.
- Les sources de contaminations microbiennes des produits pharmaceutiques sont de divers ordres : matière première (notamment celle d'origine animale et végétale), air ambiante, eau, équipement de fabrication, personnel de production et utilisateur.
- Les moyens mis en œuvre pour atteindre le niveau d'asepsie requis sont variés
 - La stérilisation qui tue ou élimine tous les micro-organismes ;
 - La désinfection qui tue ou élimine toute forme microbienne végétative;
 - La conservation dans la préparation pharmaceutique [12].

III-2-2-1-2-1- Essai de stérilité des ampoules injectables**Méthode de filtration sur membrane « Système stéri-test millipore »**

Il a pour but le contrôle de la stérilité des ampoules injectables, poches et flacons à usage parentéral ne possède pas une activité microbienne.

a) - Principe

L'essai de stérilité consiste en une induction de la croissance d'éventuels contaminant microbiens (bactéries aérobies et anaérobies, levures et moisissures). En les mettant dans des conditions de culture favorables, par la méthode de filtration sur membrane en utilisant le système « stéri-test millipore ». Il est réalisé dans des conditions d'asepsie rigoureuses pour éviter tout risque de contamination accidentelle du produit sans toute fois affecter les micro-organismes recherches (s'ils existent).

b) - Qualité/ micro biologique

Les ampoules injectables, poches et flacons à usage parentéral doivent satisfaire aux exigences des préparations pharmaceutiques appartenant à la catégorie 2 répandant a une absence totale des micro- organismes dans l'échantillon.

Avant de pratiquer le test de stérilité, nous avons réalisé un test de fertilité sur deux souches ; candida albicans et staphylococcus aureus.

Les suspensions mères de candida albicans et staphylococcus aureus sont préparées après deux repiquages successifs à $1 \cdot 10^8$ à $3 \cdot 10^8$ UFC/ml (unités formant colonie) suivant le protocole suivant:

Préparer la suspension microbienne pour les deux souches utilisées en ensemençant une colonie, isolée à partir de la boîte, dans un tube contenant 10ml d'eau physiologique stérile.

Homogénéiser par agitation au vortex 3 à 5 secondes

Ajuster le spectrophotomètre à une longueur d'onde de $620\text{nm} \pm 20\text{nm}$ et réaliser à partir de la suspension dense obtenue du liquide (eau physiologie stérile) une suspension microbienne de $1 \cdot 10^8$ à $3 \cdot 10^8$ UFC/ml qui correspond selon la norme

AFNOR de 1989 à une densité optique de 0.3 - 0.45 pour staphylococcus aureus (S.aureus) et 2 - 3 pour candida albicans (C.albicans).

Pour la numération des germes :

A partir de la suspension ajustée par DO nous préparons des suspensions microbiennes de $1 * 10^2$ à $3 * 10^2$ UFC/ml ce qui correspond à la dilution 10^{-6} . Après agitation au vortex 3 à 5 secondes, un dénombrement de contrôle est effectué en ensemençant 1ml dans deux boites de pétri stériles.

On fait couler 20ml de gélose en surfusion à $40 - 45C^{\circ}$; PCA pour S. aureus et Sabouraud pour C. albicans.

Homogénéisation des boites ensuite, à partir de la dilution 10^{-6} le milieu liquide thioglycolate est inoculé avec 1ml de S. aureus et le milieu liquide TSB avec 1ml C. albicans.

Les boites de PCA à flacon de thioglycolate sont incubées à $37C^{\circ}$ pendant 24h et les boîtes de SAB ainsi que le flacon TSB à $25C^{\circ}$ pendant 48h.

On doit vérifier que pour la dilution 10^{-6} le nombre moyen de colonies n'est compris entre 100 et 300 colonies ce qui correspond à un titre compris entre $1*10^8$ à $3*10^8$ UFC/ml .

Pour la suspension mère la formule:

$$N = n * \frac{1}{v} * \frac{1}{d}$$

Sachant que ;

n = nombre moyen de colonies

$$n = \frac{\text{boite1} + \text{boite2}}{2}$$

v = volume de la suspension par boite

v = 1ml/boite

d = dilution

$$N = n * \frac{1}{1} * \frac{1}{10^6}$$

c) Appareillage:

- Etuve réglée à 37C°.
- Etuve réglée à 25C°.
- Autoclave.
- Système steritest.
- Unité steritest « T T H A LA 2. 10 ».
- Hotte à flue laminaire vertical stérile.
- Bec benzène.

d) Petit matériel:

- ciseaux stériles ; - manchettes calot masque agents stériles ; - sur chaussures.

*** Solution et milieu de culture:**

Milieu liquide à l'hydrolysate de caséine et de soja (100 ml de milieu par flacon).
Milieu liquide au thioglycolate avec resazurine [100 ml de milieu par flacon].

*** Protocole expérimental:**

On commence par brancher l'appareil steritest, puis placer le matériel de travail sous la hotte [milieu de culture avec témoin, unité steritest, ciseaux, produit à examiner plongé dans une solution antiseptique].

Par la suite il faut décontaminer les surfaces extérieurs des conditionnements (Exposition au UV Pendant 40 min) puis allumer l'appareil steritest.

- les événements des unités steritest doivent être fermés à l'aide des bouchons en plastique rouges.

- retirer l'étui protecteur en plastique de l'aiguille

- casser l'ampoule avec le casse ampoule, on met la pompe en marche puis on aspire le contenu de l'ampoule en l'arrêtant juste avant la fin de l'aspiration totale du produit, l'extrémité de l'aiguille reste toujours dans le liquide de l'ampoule

- prélever toutes les ampoules du lot [20 ampoules] en suivant la même technique.
- fermer les orifices d'écoulement des unités steritest à l'aide des bouchons en plastique jaunes
- retirer les bouchons rouges des événements des unités.
- placer une pince sur l'un des tubulures (à proximité de l'aiguille) puis percer aseptiquement le bouchon du premier flacon de l'un des milieux de culture à l'aide de l'aiguille de prélèvement introduire cette dernière munie d'un événement stérile sur le bouchon du flacon pour la création du vide.
- Renverser le flacon et le placer sur le support bouteille.
- Mettre la pompe en marche et remplir une unité steritest avec le volume du milieu de culture.
- Intervertir la position de la pince et le placer sur l'autre tubulure.
- Répéter les mêmes étapes pour l'autre milieu de culture.
- Placer une pince à environ 5 cm au-dessus de chaque unité qui vient d'être remplie avec le milieu de culture,
- Arrêter la pompe en ouvrant la tête de la pompe et libérer rapidement le tube en tirant vers le haut.
- Couper les tubulures de chaque unité à environ 8 cm au-dessus de la pince.
- Placer les extrémités de la tubulure sur les orifices supérieurs des unités.
- Mettre les unités stéri-test à incubé pendant 14 jours à 37°C pour l'unité contenant le milieu thioglycolate et à 25°C pour l'unité contenant le milieu caséine soja avec les témoins.

En dernier examiner les cultures à plusieurs reprises au cours de la période d'incubation.

- Pour le témoin, si aucune croissance microbienne n'est observée sur les milieux de culture après 14 jours, les milieux de cultures sont stériles.
- Pour le produit à examiner, si aucune croissance microbienne n'est observée, le produit satisfait à l'essai.
- Si le produit à examiner induit une turbidité du milieu après 14 jours, transféré 0.1 ml de ce milieu dans un flacon contenant 100 ml du même milieu. Récemment préparé, incubé le milieu ensemencé ainsi que le milieu initial pendant 7 jours.
- Si une croissance microbienne est observée après 7 jours le produit à examiner ne satisfait pas à l'essai, il est répété sur le même nombre d'unité que l'essai initial.
- si une croissance est observée lors de la répétition de l'essai le produit à examiner ne satisfait pas à l'essai
- si aucune croissance n'est observée lors de la répétition de l'essai, le produit à examiner satisfait à l'essai [13].

III-2-2-1-2-2- Contrôle de la contamination du soluté par le test du Limulus Amoebocyte Lysat L.A.L [11]

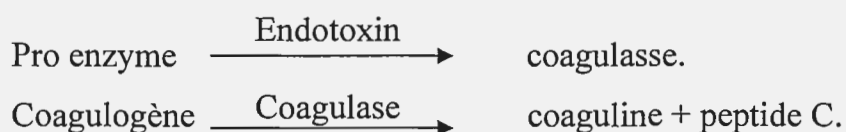
Le (L.A.L) ou « Limulus Amoebocyte» est un réactif qui permet en particulier, de faire une recherche in vitro des substances pyrogènes dans les solutions injectables, cette technique concurrence le teste officiel de la recherche des pyrogènes sur le lapin.

Ce réactif est un lysat lyophilisé d'Amoebocyte du crabe en fer à cheval *Limulus polynephus* constitué par addition de 1.2 ml d'eau pour préparation injectable apyrogène et stérile.

Le but du test est de rechercher des endotoxines bactériennes dans les solutés injectables.

Principe du Test

L'endotoxine des bactéries gram négatif catalyse l'activation d'une pro enzyme dans le lysat d'amœbocytes de limule (L.A.L), l'estimation initiale de l'activation est déterminée par une concentration présente d'endotoxines, l'enzyme activée «Coagulase» hydrolyse les liens des protéines coagulables «coagulogène» qui est aussi présente dans le (L.A.L) ; une fois hydrolysée la coaguline résultant précipite et forme un caillou gélatineux.



Protocole expérimental du test de L.A.L:

a- Reconstitution du lysat:

- Enlever la capsule métallique désinfectée le bouchon en caoutchouc avec de l'alcool éthylique.
- Prélever 5.2 ml d'eau distillée pour LAL à l'aide d'une seringue à usage unique stérile apyrogène et l'injecter dans le flacon du lysat de 50 tests.
- Enlever la seringue de l'aiguille et laisser entres de l'air dans le flacon.
- Mélange délicatement avec des mouvements rotatoires pendant 30 secondes pour dissoudre complétement la poudre du lysat dans l'eau, tout en évitant la formation de mousse.
- Distribuer le lysat reconstitué dans les tubes apyrogènes (75 x10 mm) à raison de 0.1 ml en utilisant des micropipettes de 100 micros litres.
- Refermer les tubes par leurs couvercles ou bien avec des feuilles d'aluminium d'apyrogènes.

- Conserver le flacon entre 6-8°C après reconstitution pour l'utilisation immédiate pendant 24h.
- Conserver à 10°C pendant 4 semaines.
- Le liquide congelé de lysat doit être décongelé immédiatement avant l'utilisation.

b- Reconstitution de l'endotoxine et réalisation des dilutions:

- Enlever la capsule métallique.
- Injecter dans le flacon d'endotoxine 5 ml d'eau distillée pour LAL à l'aide d'une seringue à usage unique stérile et apyrogène.
- Mélanger au vortex pendant 15 à 20 min.
- Diluer l'endotoxine avec l'eau LAL jusqu'à obtenir une concentration de 1EU/ml cela est accompli en diluant l'endotoxine reconstituée sur le certificat d'analyse joint dans le kit.
- La formule générale est 0.1 ml de l'endotoxine reconstituée dans 0.1 (X- 1) eau LAL.

Exemple:

X = 20 EU/ml.

- Diluer 0.1 ml d'endotoxine reconstituée avec 0.1 (20-1) = 1.9 => 0.9 ml eau LAL.
- En utilisant la solution de 1 EU /ml préparer une série de dilution dont chaque dilution doit être vortexée 60 secondes au préalable avant d'entamer la dilution qui suit.

Exemple:

Les séries de dilution pour le lysat de 0.125 EU/ml sont obtenues comme suit :

Tableau 5: Préparations des séries de dilutions

Tube	Eau de LAL	Volume d'endotoxine à ajouter à l'eau	Concentration d'endotoxine obtenue
1	1.0	0.1ml de 1 EU/ml	0.5EU/ml
2	1.0	0.1ml de 0.5EU/ml	0.25 EU/ml
3	1.0	0.1 ml de 0.25 EU/ml	0.125 EU/ml
4	1.0	0.1 ml de 0.125 EU/ml	0.06 EU/ml
5	1.0	0.1 ml de 0.06 EU/ml	0.03 EU/ml

Concentration d'endotoxine reconstituée à 2-8 °C pendant 4 semaines. Les dilutions sont conservées à 2-8°C pendant 24 heures

c - Exécution du Test:

- Préparer l'échantillon selon les indications des différentes monographies.
- Ajouter 0.1 ml d'échantillon dans les tubes du lysat à la sensibilité de 0.125 EU/ml (proposer en double).
- Recouvrir les tubes avec leurs bouchons ou bien avec des feuilles d'Aluminium apyrogènes.
- Incuber à 37 °C pendant 1 h en évitant toute vibration des tubes.
- Effectuer un contrôle négatif et deux contrôles positifs.

1 - Témoin négatif:

Pour la sensibilité du lysat 0.125 EU/ml nous ajoutons à chaque tube de lysat 0, 1ml d'eau L.A.L. Le rôle de ce témoin est de vérifier l'absence d'endotoxine dans l'eau L.A.L.

2 - Témoin Positif:

Nous utilisons deux témoins positifs.

* Premier témoin:

- En Pipetant 0.1 d'endotoxine de contrôle à la concentration double de la sensibilité du lysat.
- Addition de 0.1 ml d'endotoxine de concentration 0.250 EU/ml à 0.1 ml de lysat à 0.125 EU/ml.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
جامعة جيجل
المكتبة كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
استمارة الإعارة.....

بطاقة رقم: 184
الإسم واللقب: *فريجة*
عنوان الكتاب: *La Route de G*
رقم المجلد: *1*
رقم التصنيف: *C 913109*
تاريخ الإعارة: *2012/04/01*
تاريخ الإرجاع: *2012/04/04*
توقيع المستفيد: *Betko*
توقيع العون: *[Signature]*

est de vérifier l'activité du lysat au moment et dans les conditions de l'endotoxine destinée à ce témoin sont préparées

endotoxine de contrôle dans le produit (le piroxicam à

contrôle à la concentration double de sensibilité du

de concentration 0.250 EU/ml à 0.1 ml de lysat à

EU/ml.

Le rôle de ce témoin est de démontrer l'absence de facteurs d'inhibition au moment et dans les conditions de l'essai.

III-2-2-1-3- Le contrôle toxicologique

Selon Fabre et Truhaut [14], une substance est un toxique lorsque, après pénétration dans l'organisme par n'importe quelle voie, à une dose relativement élevée en une ou plusieurs fois très rapprochées ou par petites doses longtemps répétées, elle provoque immédiatement ou à terme, de façon passagère ou durable; des

troubles d'une ou de plusieurs fonctions de l'organisme pouvant aller jusqu' à leur suppression complète et amener la mort[14].

Cependant la toxicité d'une substance a été définie comme étant sa capacité de produire des effets nocifs à un organisme vivant

Les essais toxicologiques du prixam 20 mg injectable ont portés sur trois types d'essais:

- Toxicité aigue ; - Toxicité anormale ; - Détermination de l'isotonicité.

a) But de l'étude toxicologique:

Le but des études toxicologiques est basé sur les effets des substances sur les tissus; résultat de réactions ou interactions entre l'administration du médicament et certains composants de l'organisme. Le résultat de ces réactions se manifeste en effet sur le fonctionnement et la structure des tissus. Cet effet peut être réversible en l'absence d'une exposition continue avec le médicament qui peut engendrer la mort cellulaire.

Ainsi, le principal but de l'étude toxicologique serait d'identifier lequel des médicaments serait capable de produire un effet considérable sur l'organisme. Cette étude permet alors de détacher les altérations structurales ainsi que le mécanisme avec lequel le médicament interagit avec les différents composants.

Le résultat du développement de ces méthodes toxicologiques a abouti aux principales conclusions suivantes [15] :

- Pour les médicaments qui produisent un effet biologique, il leur faut un contact avec les cellules ou les récepteurs.

- Pour tout médicament il existe une quantité au dessous de la quelle il n'y a pas un effet détectable sur tout l'organisme.

- Les cellules ayant un fonctionnement et métabolisme similaires dans des espèces différentes, sont généralement affectées similairement.
- De petites variations de la structure du médicament peuvent influencer l'activité biologique.

Parmi les paramètres pouvant influencer les études toxicologiques on peut noter le choix de l'espèce. L'animal idéal (rats, souris, hamsters) est celui qui présente une absorption, un métabolisme, une excrétion et une organisation des tissus comparables à celles des humains surtout dans le cas d'études chroniques.

Pour la toxicité aiguë, ce sont essentiellement les rats et les souris qui sont les plus utilisés à cet effet, en raison de

- Coût bas.
- Disponibilité en grands échantillons pour l'évaluation statistique.
- Abondance des références toxicologiques.

III-2-2-1-3-1- Etude de toxicité aiguë du prixam 20mg injectable

Elle concerne l'étude quantitative et qualitative des phénomènes toxiques, et leurs apparitions en fonction du temps, après l'administration de la substance. L'effet toxique peut se manifester soit peu de temps après l'absorption du toxique, il s'agit d'une toxicité immédiate, soit après un temps de latence plus au moins long, il s'agit alors d'une toxicité retardée [16].

L'étude a pour but de:

- Calculer une dose ou une concentration létale 50 (DL50) : qui est la dose capable de tuer par une voie d'administration choisie la moitié des animaux mis en expérience.
- Calculer une dose minimale mortelle (D.M.M): qui est la dose minimale de la substance capable de tuer un animal par voie veineuse lente, cette dose servira à situer

initialement la substance dans l'échelle des toxicités, et pourra être prise en compte dans le choix des niveaux de doses retenues pour la détermination de la (DL 50).

- Définir la nature des effets toxiques.
- Prévoir et donner des informations sur les risques encourus par l'homme.
- Donner des indications sur la manière de conduire les études toxicologiques et déterminer l'organe cible.

*** Principe de la détermination de la (DL 50)**

Sur le plan expérimental, l'expression numérique de la toxicité aiguë est la (DL 50), elle est généralement exprimée en mg ou g/kg de poids corporel. La détermination graphique de la (DL 50) est faite à partir d'une courbe dose réponse est de type tout ou rien. La méthode consiste à administrer à un nombre d'animaux des doses croissantes et en progression arithmétiques, la substance à tester de façon que le pourcentage de mortalité varie entre 0 et 100%. Les lots sont constitués de façon homogène et tout les animaux d'un même lot reçoivent la même dose, la durée d'observation est en générale de 14 jours, en portant en abscisse le logarithme de la dose et en ordonnée le pourcentage de mortalité on obtient une courbe sigmoïde «Courbe de Trevans ». Cette courbe peut être linéaire en utilisant en ordonnée des unités dites «probits » selon la méthode de «Miller et Trainer » ; le papier gradué permet de tracer une droite de régression à partir des points expérimentaux obtenus, l'utilisation du papier log-probit nécessite le calcul des valeurs qui correspondent au 0% et 100% sur le graphe.

*** Méthode:**

Après l'administration du produit, les animaux sont observés pendant 14 jours, l'instant et la circonstance de la mort sont soigneusement notés, les animaux demeurant vivants sont sacrifiés à la fin de l'essai. Tous les animaux morts au cours de l'essai sont sacrifiés en fin d'essai, et vont faire l'objet d'une autopsie, la courbe obtenue va permettre de donner le pourcentage en fonction de la dose.

a- Répartition des lots de souris

On constitue cinq lots de dix souris chacun ces cinq lots recevront cinq doses différentes du produit et cela par voie intraveineuse comme suit:

- le lot 1 recevra une dose de 250 mg/kg
- le lot 2 recevra une dose de 350mg/kg
- le lot3 recevra une dose de 450 mg/kg
- le lot4 recevra une dose de 550 mg/kg
- le lot5 recevra une dose de 650 mg/kg (voir fiche technique I (annexe))

b- Protocole expérimental

La veille de l'essai, cinq lots de dix souris chacun sont maintenus a jeun pendant 18 heures, les animaux repartis par randomisation reçoivent par voie intraveineuse 0,5 ml de la même dose cette dernière est différente d'un lot à un autre On observe d'éventuels effets toxiques en l'occurrence le nombre de mortalité qui est observé tous les jours et ceux pendant 14 jours [17].

**** Facteurs de variation de la DL50***

On note d'après Franck (1991) les facteurs suivants:

• Facteurs liés à l'animal:

- l'espèce animale.
- L'âge.
- Le sexe.
- Le poids
- L'alimentation de l'animal.

• Facteurs liés aux conditions expérimentales:

- la vois d'administration.
- La vitesse d'administration
- Changement de température et l'humidité etc.

III-2-2-1-3-2-Etude de toxicité anormale du prixam 20mg injectable

Le contrôle approprié d'absence de toxicité anormale appliqué à la production pharmaceutique s'avère aujourd'hui un complément indispensable aux contrôles physico-chimiques pour augmenter le degré de sécurité des médicaments destinés aux malades.

Est considéré comme essai de recherche de toxicité anormale tout essai ou ensemble d'essai permettant de révéler par des méthodes biologique la présence d'un ou de plusieurs anomalies de nature variée et appropriée non connue, d'un produit, matière première ou médicament fini par rapport au produit de référence correspondant dont les normes de conformités accompagnées de tolérance ont été établies lors des recherches préliminaires à l'autorisation de mise sur le marché. Ces essais permettent de déceler selon le cas, matière première ou médicament fabriqué en vrac ou conditionnées :

- Des impuretés dans la matière première.
- Des défauts de fabrication.
- Variations fortuites de la stabilité engendrant des produits toxiques ou d'activité pharmacologique modifiée.
- Variations d'activités dues à un changement de granulométries du principe actif.
- L'addition accidentelle ou criminelle d'un autre principe actif non prévu à la formule ou d'un toxique quelconque [18].

a) Principe [19]

Le contrôle consiste en l'administration à des souris, une dose unique et adéquate de produit par voie appropriée.

Aucune anomalie ne doit être constatée après une période d'observation allant de 48 heures à 15 jours.

b) Protocole expérimental [19]

Les souris sont mises à jeûn la veille de l'essai. On constitue deux lots de cinq souris chacun, cinq males et cinq femelles. Les deux lots recevront une dose 76 fois supérieure à la dose thérapeutique et qui est de 50mg/kg. (voir fiche technique II (annexe))

C'est un test de contrôle de qualité du produit fini, on prend alors deux ampoules prixam injectable pour adulte et on les dilue dans 10 ml d'eau distillée.

La solution obtenue est administrée par voie intraveineuse en une seule fois et à une dose de 50 mg par kg à un lot de 5 souris males en raison de 0,5 ml par souris

- les animaux mis en expérience reçoivent de l'eau et de la nourriture 4 heures après l'administration, ils sont soumis à une observation quotidienne pendant 48 heures, afin d'estimer d'éventuels anomalies (tremblements, convulsion, salivation, sommeil et coma, ou mortalité)
- la dose 50 mg/kg représente la DL_{0} ou dose maximale tolérée qui ne provoque aucune mortalité, déduite à partir du test précédent.

III-2-2-1-3-3- Etude de toxicité sub-chronique du prixam 20mg injectable

Elle a pour objet de mettre en évidence des altérations fonctionnelles anatomopathologiques de l'organisme et éventuellement de constater la réversibilité de ces modifications dues à l'administration répétée d'une ou différentes doses du toxique dans des conditions précises.

- les essais durent de quelques semaines à plus d'une année, cela représente un intérêt pour les médicaments qui doivent être administrés d'une manière prolongée chez l'homme.
- l'essai est pratiqué sur des lots d'animaux males ou femelles selon la sensibilité au médicament.

- Pour les rats de 10 à 20 individus/lot.
- Pour chien de 5 à 10 individus/lot.
- pour permettre une interprétation statistique des résultats, les comparaisons sont faites par rapport à des lots témoins qui reçoivent l'excipient de la préparation étudiée dans les mêmes conditions que les animaux traités[20].

III-2-2-1-3-4- Etude de toxicité immunologique du prixam 20mg injectable

Elle a été définie comme l'ensemble des effets délétères provoqués par un médicament sur le système immunitaire. Deux types d'effets sont envisageables:

- Immunosuppression qui peut augmenter la sensibilité aux infections ou le développement de tumeurs.
- Immunostimulation qui peut se manifester par l'auto-immunité ou par allergie [21].

III-2-2-1-4- Contrôle de l'isotonicité du Prixam 20mg injectable par le Test d'isotonicité

Une solution est dite isotonique lorsqu'elle est en équilibre avec le milieu interne des érythrocytes [22].

Le but est de démontrer l'absence des propriétés hémolytiques de la solution injectable.

III-2-2-1-4-1- Méthode détermination de l'isotonicité :

a – Prélèvement veineux

Nous avons suivi les instructions pour un prélèvement sanguin humain et qui sont comme suit:

- placer le garrot au niveau du bras
- désinfecter la surface cutanée avec l'alcool
- effectuer une ponction franche avec une aiguille.

- collecter le sang directement dans le tube de prélèvement héparine.
- Mélangé soigneusement l'anticoagulant et le sang par retournements successifs du tube, en évitant une agitation brutale (risque d'hémolyse)
- Centrifugation du sang à 1000 tours pendant 5 min

b- Principe de la technique

Pour l'examen des préparations injectables, le globule rouge humain constitue un réactif de choix car il est sensible au manque d'isotonicité.

Le contrôle de l'isotonicité est très important dans le cas de solutés destinés à la voie intraveineuse, pour étudier le comportement des érythrocytes humains en présence des solutions injectables.

Cette technique permet la détermination de l'isotonicité par méthode biologique qui consiste à:

- Introduire 1 ml de la solution à examiner (prixam) dans un tube à essai
- Ajouter 50 µml du culot de centrifugation
- Homogénéiser avec un agitateur pendant 1 minute.
- Porter au bain marie à 37°C pendant 1 heure.
- Centrifuger à 1000 tours / min pendant 3 min
- Préparer dans les mêmes conditions un blanc réactif avec une solution du chlorure de sodium isotonique (0,9) et un tube cent pour cent d'hémolyse avec l'eau distillée [22].

Chapitre IV

Résultat et discussion

IV - Résultat et discussion

Notre étude pratique porte sur l'évaluation de la qualité des formes pharmaceutiques liquides : le Piroxicam injectable fabriqué par la firme pharmaceutique Algérienne Saïdal (prixam 20mg). Le produit a été soumis à des contrôles physico-chimique, microbiologique et toxicologique depuis ses matières premières et jusqu'au produit fini.

IV-1- Résultat et discussion du contrôle physico-chimique du prixam 20mg (matières premières, articles de conditionnement et produit fini) :

Les analyses spectrales par infrarouge (voir annexe, figure 7) ainsi que par chromatographie HPLC de même que les recherches de contamination par les métaux lourds, nous ont permis d'obtenir les résultats résumés dans le tableau suivant :

Spécification		Norme	Résultat	
Caractère	Aspect	Poudre cristallisée blanche légèrement jaune	conforme	
	Solubilité	Pratiquement insoluble dans l'eau soluble dans le chlorure méthylène peut soluble dans l'éthanol	conforme	
Identification	Essais	Substances apparentées par HPLC	Le spectre obtenu de l'échantillon correspond au spectre de référence	conforme
		Imputée individuelle	≤0.2%	conforme
		Imputée totale	≤0.4%	conforme
		Métaux lourds	≤20ppm	conforme
		Cendres sulfuriques	≤0.1%	0.098%
		Perte à la dessiccation	≤0.5%	0.107%
Dosage	Dosage par potentiomètre	98.5 à 101%	100.62%	

Perte à la dessiccation

Pèse creuset vide: 28.45g

$$T = (\text{pèse initial} - \text{pèse final} / \text{prise d'essai}) * 100$$

Pèse MP : 1.0016g

Entre pendant 4h à 105C°

Après dessiccation: 20.457g

$$(28.459 + 1.0016) - 29.957 / 1 = 0.43\% \leq 0.5\%$$

conforme

Tableau 6 : Résultats de contrôle physico-chimique d'eau pour préparation injectable

Test	Normes	Résultats
Caractères	Liquide limpide, incolore et insipide	Conforme
pH	5,0 à 7,0	5.63
Conductivité ($\mu\text{S} / \text{cm}$)	$< 2 \mu\text{S} / \text{cm}$	0.83
Substances oxydables	la solution reste légèrement colorée en rose	Conforme
Nitrates	La coloration de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin $< 0,2 \text{ ppm}$	Conforme
Métaux lourds	La coloration brune de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin $< 0,1 \text{ ppm}$	Conforme

IV-2- Résultat et discussion du test de la toxicité aiguë

Après avoir administré le piroxicam aux souris, nous avons obtenus les résultats représentés dans le tableau suivant :

Tableau .7 : Résultats de l'étude de la toxicité aiguë exprimés en % de mortalité selon la dose de piroxicam injecté (mg/kg).

	Jour dose g/kg	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	% de mortalité
Lot1	250	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20%
Lot2	350	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50 %
Lot3	450	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	70 %
Lot4	550	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	90%
Lot5	650	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100%

Parmi les méthodes de calcul de la DL₅₀ et ses limites de confiance, la méthode de Miller et Tainter qui permet de tracer une droite de régression en portant directement sur le papier log probabilité, le pourcentage de mortalité en fonction du log de la dose et ceci après avoir effectué les opérations suivantes 0% et 100% dont les probités tendent vers l'infini sont remplacées par les valeurs suivantes :

$$0\% = 0.5/N \times 100$$

$$0\% = 0.5 / 10 \times 100 = 5\%$$

Où N est le nombre d'animaux dans chaque lot

$$100\% = N - 0.5/N \times 100$$

$$100\% = 10 - 0.5/10 \times 100 = 95\%$$

Dans notre cas, cette méthode nous permet de déterminer la DL₅₀ du piroxicam. La DL₅₀ est déterminée graphiquement (Figure 8) ; elle est égale à 350g/kg (DL₅₀ = 350g/kg).

Il s'agit de la dose du piroxicam provoquant 50% de mortalité dans la population des souris étudiées.

IV-3- Résultat et discussion de la toxicité anormale

L'observation faite au cours de 48h ne révèle aucune anomalie ni mortalité chez les souris traitées par le prixam (forme injectable) à une dose de 50 mg/kg (dose équivalente à 76 fois la dose thérapeutique).

Ce test nous a permis de contrôler la qualité du produit fini prixam 20mg injectable. L'absence d'anomalies décelables au cours du test témoigne de la conformité du produit prixam (forme injectable).

IV-4-Résultat et discussion de l'isotonicité du prixam 20mg injectable

Le résultat est exprimé selon l'aspect du sérum ;

Tube1 → Sérum d'aspect limpide

Tube 2→ Sérum d'aspect limpide

Tube 3 → Sérum montrant une hémolyse franche

Ces résultats démontrent que le piroxicam est une solution isotonique

IV-5- Résultat et discussion de l'apyrogénicité du prixam 20 mg et des excipients liquides (eau distillée...) vérifiée par le Test au L.A.L

1-témoin négatif:

Ce résultat est considéré comme négatif, du à l'absence d'une gélification car l'eau ne contient pas d'endotoxines.

2-premier témoin positif:

Effectivement, ce résultat est positif car il y a eu une gélification, cette dernière est due à la présence d'endotoxines.

3- Deuxième témoin positif:

Ce résultat est toujours positif, du à la présence d'endotoxines.

La comparaison des tubes témoins négatifs et témoins positive montre que l'eau L.A.L ne contient pas d'endotoxines, elle ne se gélifie pas (tube 1). En revanche lors de l'utilisation des endotoxines standard, il y a eu une gélification (tube 2 et 3).

IV-6- Résultat et discussion du test de stérilité

Aucune croissance microbienne n'a été observée après 14 jours sur le témoin ce qui implique que les milieux de cultures sont stériles. Aussi, aucune croissance microbienne n'a été observée sur le produit à examiner qui est le piroxicam ce qui veut dire que le produit satisfait à l'essai.

Conclusion

CONCLUSION

Notre travail a porté sur le contrôle de qualité du piroxicam Saïdal, forme injectable (Prixam 20mg) selon les recommandations des standards de qualité des produits pharmaceutiques [4] fixant les caractéristiques des composants du produit notamment du degré de pureté des principes actifs, les modalités de préparation et des caractéristiques de la forme pharmaceutique. Le contrôle concerne les matières premières, le produit fini et les articles de conditionnement.

Le contrôle que nous avons réalisé sur une forme pharmaceutique fabriquée par Saïdal ; le piroxicam, forme injectable (Prixam 20mg) démontre que le principe actif présente une solubilité et une couleur caractéristique, la vérification de son identité par spectrométrie infrarouge et par chromatographie HPLC ainsi que par les réactions colorimétriques de même que son dosage, est conforme aux normes (pharmacopée européenne et les monographies internes).

La révélation de la pureté a été vérifiée par l'aspect des solutions et l'absence de contamination par les métaux lourds. De même que l'absence d'impureté illustrée par la perte à la dessiccation.

Le contrôle physicochimique et bactériologique des excipients assure leur purification (l'absence de contamination par les impuretés et les germes spécifiques tels que E. coli, Salmonelle).

Aussi, les résultats du contrôle microbiologique et toxicologique aussi bien des matières premières, des articles de conditionnement que celui du produit fini, ayant comporté des tests de toxicité aiguë, de recherche de toxicité anormale, un test d'isotonicité, test de L.A.L et un test de stérilité, nous ont permis de donner 5 points importants à ce contrôle :

-Le test de la toxicité aiguë, chez les souris traitées par le piroxicam (matière première) à des doses croissantes (250, 350, 450, 550, 650) mg/kg nous donne la $DL_0 = 50$ mg/kg chez des souris, et la DL_{50} qui est de 350 mg/kg.

-Le test de la toxicité anormale, a affirmé la conformité du produit prixam (produit fini) ampoules injectables chez les souris ayant reçues une dose de 50 mg/kg qui est 76 fois supérieur à la dose thérapeutique.

-Le 3ème test qui est le test de l'isotonicité, nous a permis de confirmer que prixam en solution injectable est isotonique avec le milieu sanguin.

-Le 4ème test, le test de L.A.L, a confirmé l'absence de toutes sortes d'endotoxines bactériennes, ainsi que prixam, n'est toxique qu'à doses élevées par rapport à la dose thérapeutique.

-Et en dernier, le test de stérilité qui a confirmé la stérilité des milieux de culture ainsi que la stérilité du produit fini.

Il faut signaler, que ce travail aurait été plus bénéfique si l'échantillon s'est étalé à un plus grand nombre d'animaux et complémenté par d'autres tests comme le test de la toxicité sub-aigue, l'étude anatomopathologique à l'autopsie ainsi que par la recherche des effets mutagènes et tératogènes du prixam à long terme.

Toutefois et à l'issu de nos résultats, on peut conclure que le prixam formulée par le centre de recherche et développement (CRD) SAIDAL est bien tolérée.

Enfin nous espérons que le présent travail ait contribué activement à l'étude du contrôle de qualité du produit en développement par le groupe SAIDAL (Algérie).

A la fin, par notre travail modeste nous avons pu affirmer que la qualité du générique est contrôlée avec la même rigueur que celle du princeps, de même, l'emploi des méthodes de contrôle et d'évaluation au sein de cette entreprise pharmaceutique répond aux exigences de bonnes pratiques de fabrication et aux normes de la pharmacopée ce qui nous a permis de juger la bonne qualité des médicaments génériques de l'entreprise, Saïdal.

L'autre but visé par ce mémoire était justement de suivre, d'appliquer, et de maîtriser les techniques et les règles de contrôle de la qualité selon les normes de

monographies afin de vérifier et de s'assurer de la conformité et de l'innocuité des produits issus de cette firme pharmaceutique. Ainsi donc, le stage que nous avons effectué dans cette dernière nous a été très bénéfique non seulement pour notre mémoire de fin d'études mais surtout pour notre formation et notre préparation aux tâches futures du contrôle de la qualité qui sont les nôtres après notre retour dans notre pays, la Mauritanie.

Glossaire

Glossaire

Appyrogène: qui ne provoque pas de fièvre.

Cardiopathie: Toute maladie du coeur.

Cancérogène : processus de formation de cancer.

Clairance : Rapport entre le débit d'élimination d'une substance chimique par un organe (Foie, rein) et le fonctionnement de l'organe.

Eclampsie : Affectation de la fin de la grossesse due à une toxémie gravidique et caractérisé par des convulsions.

Endotoxine: Toxine contenue dans la paroi de certaines bactéries qui n'est pas libérée dans le milieu qu'en cas de destruction du germe.

Hémolyse : destruction des globules rouges du sang provoquant une anémie.

Héparine Anticoagulant qui inhibe la formation et action de la thromboplastine et la thrombine.

Immunotoxicité : ensemble des effets délétères provoqués par un médicament sur le système immunitaire.

Muco-ciliaire ; Muco = mucus : sécrétion visqueuse contenant des protéines et de glucides sous forme de mucines, produite par les cellules des muqueuses et jouant un rôle de protection. *Ciliaire:* relatif aux cils, «corps ciliaire : anneau situé entre l'iris et la choroïde de l'œil (réglant la courbure du cristallin et décréant l'humeur aqueuse).

Pharmacocinétique: étude du sort des médicaments dans l'organisme, leur pénétration, leur métabolisme et leur distribution par la circulation sanguine.

Principe actif: substance ayant un pouvoir thérapeutique à l'effectif d'une population.

Spasme : contraction musculaire involontaire touchant surtout le muscle lisse.

Toxicologie : Etude de la capacité toxique réelle ou théorique des divers produits.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] RADP J.O, (1985). Loi 85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé (Article 170).
- [2] Boufia, y, (2007). Les médicaments. Edition santé (Alger), p49.
- [3] Lebied M. Youssifi T, (2007). Analyse du processus de management du groupe Sidal, cas du CDR. Séminaire sur le management de la qualité, Alger.
- [4] Le Hir.A, (2001). Bonnes Pratiques de Fabrication. Masson édition (Paris), p402.
- [5] Anonyme, (2004). Le Guide de la qualité du contrôle de la qualité et de la normalisation. Edition Gallien (Paris), 1^{er}edition, p234.
- [6] Hubérac J.P, (2001). Guide des méthodes de la qualité. Edition Maxima (Paris). P192.
- [7] Chassaigne, M, (2006). Démarches qualité en transfusion sanguine (principes Généraux du management de la qualité et processus transfusionnels).
- [8] Lamprecht. Y, (2001). ISO9001 (commentaire et conseils pratiques). Edition AFNOR, 193 pages.
- [9] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, (2007) : bulletin officiel n° 2007-1 (les bonnes pratiques de fabrication).
- [10] Priou Y. (1996): Assurance qualité de la centrale d'approvisionnement créée par pharmaciens sans frontière (Application des normes ISO 9002).
- [11] Pharmacopée Européenne (2002), 4^{ème} Edition.
- [12] Eugene, W., Liloyd, D., (1986). Safety evaluation of drugs and chemicals. Edition Hemisphere publishing corporation (New York), p 147.
- [13] Akers, J, (1987). Pharmacopée européenne. Science et Technologie 4116, 1 pp 197-207. UPXX 11.
- [14] Faber et truhaut 1998. Eléments de toxicologie. Edition Masson (Paris), p348.

- [15] Loomis, TA., Hayes, AW, (1996). Essentials of toxicology. Edition, Academic press, INC (California), p224.
- [16] Dutertre, M., Dubeiunet, MC, (2001). Le préparateur en pharmacie, Dossier G: toxicogalénique. Edition médicale internationale, Tec et Doc (Paris), p164.
- [17] Miller, LC., et Tainter, M.T, (1994). Journal officiel des communautés européennes n°L383/A/1 10.
- [18] Eugene, W., Lioyd, D., (1986). Safety evaluation of drugs and chemicals.
- [19] Anonyme, (1974). Technologie pharmaceutique, tome 3, 9 : 545-54.
- [20] Charpin. J, (1988). Allergologie. Edition Flammarion Médecine science (Paris), p382.
- [21] Wepierre, J, (1981). Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire, Edition Masson (Paris), p176.
- [22] Pradeau, J (1992). L'Analyse pratique du médicament, Edition Lavoisier (Paris), p 965.

Les sites Internet consultés

[http:// www.roche.fr/rochefr/pianete/internet/internet.j.html](http://www.roche.fr/rochefr/pianete/internet/internet.j.html) (6-7-2008)

[http:// www.spin.fr/industrie médicament /definition.htm](http://www.spin.fr/industrie_medicament/definition.htm)

[http:// www.shsmu.edu.cn/](http://www.shsmu.edu.cn/)

[http:// www.biam.2org/](http://www.biam.2org/)

Annexes

Annexe

Les exigences des bonnes pratiques de fabrication

Les exigences de base de BPF sont les suivantes :

1- Tout procédé de fabrication est clairement définie et revu systématiquement à la lumière de l'expérience ; il doit être démontré que le procédé est capable de

Produire de façon répétée des médicaments répondant à leurs spécifications

2- Les étapes critique de la fabrication et toutes les modifications importantes sont validées.

3-Tous les moyens nécessaires à la mise en œuvre des BPF sont fournis, y compris :

a) un personnel qualifié et formé de façon appropriée

b) des locaux convenables et suffisamment spacieux

c) du matériel et des services adéquats

d) des produits, récipients et étiquettes corrects

e) des procédures et instructions approuvées

f) un stockage et des moyens de transport appropriés

4- Les instruction et les procédures sont rédigées dans un style approprié et utilisent un vocabulaire clair et sans ambiguïté, particulièrement adapté aux moyens soumis

5-l'opérateur reçoivent une formation afin de mettre correctement en œuvre les procédures

6-des relevés sont établis manuellement ou avec les appareils d'enregistrement ou manuellement et avec des appareils d'enregistrement, pendant la fabrication, ils prouvent que toutes les étapes requises par pour les procédures ont effectivement été suivies et que qualitativement et quantitativement le produit obtenu est conforme à ses spécifications, toute déviation significative est enregistrée de façon détaillée et examinée

7-des dossiers des fabrications et notamment de distribution (commerce en gros)

Sont établis en vue de retracer l'historique complet d'un lot, ils sont rédigés de façon claire et restent facilement accessibles

8-la distribution des médicaments comporte le minimum de risques leur qualité

9-un système de rappel est organisé pour les cas où il s'avérerait nécessaire de rappeler un lot de produit.

10-les réclamations concernant les produits commercialisés sont examinées, les causes des défauts de fabrication recherchées et les mesures appropriées prises, non seulement en ce qui concerne le produit défectueux lui-même mais également en vue de prévenir le renouvellement de ces défauts

{commission Européenne, 1999}

FICHE TECHNIQUE I:

Préparation de la solution administrée (pour la toxicité aigue)

- On prépare pour chaque dose la solution qui lui convient et les doses choisies doivent être croissantes en progression arithmétique (250, 350, 450, 550, 650) g/kg du poids corporel.

- On prend par exemple la préparation de la solution pour la dose 250 g/kg du poids corporel (PC) ; On doit tout d'abord calculer la dose correspondante au poids moyen de la souris (c'est-à-dire 20 g) (injection des souris par mg).

250 mg (MP) —————→ 1 kg (PC)

250 mg (MP) —————→ 1000g

X1 —————→ 20 g (poids moyen d'une souris)

X1=5 mg

5 g est la quantité de la matière (MP) pour une souris de 20 g. Retrouvé dans 0,5 ml de la solution,

- 250 g/kg : la dose de la matière première (piroxicam) pour 1 kg du poids corporel
- 20g : poids moyen d'une souris
- 0.5ml : volume d'eau ou de liquide que peut recevoir une souris.
- 10 ml : volume de la solution à préparer
- Pour recevoir que 0,5 d'une solution, on procède aux calculs suivants

5 mg(MP) —————→ 0,5ml (volume administré pour la souris)

X2 —————→ 10 ml (volume de la solution à préparer)

100 : c'est la quantité de la matière pour un volume de 10 ml.

$X \times 2 = 100 \text{ mg}$.

FICHE TECHNIQUE II

Calcul de la dose administrée de prixam pour l'étude de la toxicité anormale.

Produit utilisé : prixam 2 ampoules pour adulte a 1 ml pour ampoule. DL 50=350g/kg

40 mg(60kg/J)

40mg \longrightarrow 60kg

X \longrightarrow 1Kg

Dose thérapeutique $x = 0.66 \text{ mg /kg}$

1 ampoule correspond a 1ml (20mg /1ml) on complète a 10ml avec de l'eau physiologie.

20mg \longrightarrow 1ml

X \longrightarrow 0,5ml(vol /S)

X=1mg

1mg \longrightarrow 20g (poid/souris)

X \longrightarrow 1000g

X=50mg/kg=dose utilisé

Le coefficient de sécurité = $\frac{\text{dose utilisée}}{\text{dose thérapeutique}} = 50/0,66 = 75,75$

DLO =50 mg/kg

Dose thérapeutique $x = 0.66 \text{ mg /kg}$

Le coefficient de sécurité = 75.75

La dose utilisée est 76 fois la dose thérapeutique

Tableau (8): composition de granules de L ONAB .

paramètres	Caractéristique technique produit en
humidité	14 max
Matière minérale	8,08%
Matière protéique	22%
Matière grasse	2,5%
Cellulose	3%
Vitamine A	1230UI/kg
Vitamine E	20mg/kg
Fer	76 mg/kg
Magnésium	25 mg/kg

Certificat analyse

Laboratoire de chimie analytique:

Produit : piroxicam

Date de fabrication: 03/2005

N° de lot: 01/03

Date de péremption: 03/2010

Provenance: andéen

Référence bibliographique: pharmacopée européenne 2002.

Tableau 4. Certificat d'analyse

Spécification		Norme	Résultat	
Caractère	Aspect	poudre cristallisée blanche légèrement jaune	conforme	
	Solubilité	pratiquement insoluble dans l'eau soluble dans le chlorure méthylène peu soluble dans éthanol	conforme	
Identification	Essais	Substances apparentées par HPLC	le spectre obtenu de l'échantillon correspond au spectre de référence	Conforme
		Imputée individuelle	≤0.2%	conforme
		Imputée totale	≤0.4%	conforme
		Métaux lourds	≤20 ppm	conforme
		Cendres sulfuriques	≤0.1%	0.098%
	Perte à la dessiccation	≤0.5%	0.107%	
Dosage	Dosage par potentiomètre	98.5 à 101%	100.62%	

Contrôle des matières premières (Excipients) (tab-9)

1. Spécifications et contrôles:

Alcool benzylique Référence : Pharmacopée Européenne 2002, 4^{ème} édition

TESTS	NORMES
<u>CARACTERES :</u>	
Aspect	
Solubilité	Liquide huileux, limpide, incolore, réfringent. Soluble dans l'eau, miscible à l'alcool, à l'éther, aux huiles grasses et aux huiles essentielles.
Densité	1,043 à 1,049
<u>IDENTIFICATION :</u>	
Infra rouge	Le spectre de l'échantillon correspond au spectre de référence
<u>ESSAI :</u>	
Aspect de la solution	La solution est limpide et incolore.
Acidité	Le virage au rose ne nécessite pas plus de 1ml de NaOH.
Indice de réfraction	1,538 à 1,541
Indice de peroxyde	5,0
Benzaldehyde et autres substances apparentées par CPG :	0,05%
- Benzaldehyde	0,10%
- Cyclohexylméthanol	0,02%
- Total des autres impuretés de rétention relatives inférieur à celle de l'alcool benzylique	0,2%
- Total des impuretés de rétention relatives inférieur à celle de l'alcool benzylique	0,0001%
- Limite d'exclusion	0,05%
Résidus à l'évaporation	98,0% à 100,5%
<u>DOSAGE :</u>	
Par titrimétrie	

2. Nicotinamide (tab-10)

Référence : Pharmacopée Européenne 2002, 4^{ème} édition

TESTS	NORMES
<u>CARACTERES :</u>	
Aspect	Poudre cristalline blanche ou cristaux incolores.
Solubilité	Facilement soluble dans l'eau et dans l'éthanol
<u>IDENTIFICATION :</u>	
Première identification :A ,B	
Deuxièmes identification :A,C,D	
A/ point de fusion	128,0°C à 131,0°C
B/ Par IR	le spectre de la Nicotinamide obtenu avec l'échantillon correspond au spectre de référence.
C/ Réaction des chimique	Il se dégage des vapeurs d'ammoniac reconnaissable à son odeur
D/ Réaction des chimique	Il se développe une coloration jaune
<u>ESSAI :</u>	
Aspect de la solution	La solution S est limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB7.
Détermination du PH	6,0 à 7,5
Substances apparentées par CCM	S'il apparaît d'autre taches que la tache principal dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elle n est plus intense que la tache du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (0.25%).
Métaux lourds	30ppm
Perte à la dessiccation	0,5
Cendre sulfuriques	0,1
<u>DOSAGE :</u>	
Par titrimétrie(calculé par rapport à la substance desséchée)	99.0 à 101

Acide chlorhydrique(concentré) (tab-11)

Référence : Pharmacopée Européenne 2002, 4^{ème} édition

TESTS	NORMES
<u>CARACTERES :</u>	Liquide limpide et incolore, fumant à l'air miscible à l'eau.
Aspect	Voisine de 1,18
Densité	La solution est fortement acide
<u>IDENTIFICATION :</u>	le précipité se dissout facilement à l'exception d'éventuelles particules importantes qui se dissolvent lentement.
A. pH	Le papier filtre se colore en rouge violet.
B. Réaction des chlorures :	Satisfait aux limites du dosage.
a-	La solution est limpide et incolore.
b-	4ppm
C.	20ppm
<u>ESSAI :</u>	2ppm
Aspect de la solution	0,01%
Chlore libre	35,0 % à 39,0 %
Sulfates	
Métaux lourds	
Résidu à l'évaporation	
<u>DOSAGE :</u>	
Par titrimétrie	

Phosphate monosodique dihydraté (hydrogénophosphate de sodium dihydraté)
(tab-12)

Référence : Pharmacopée Européenne 2002, 4^{ème} édition

TESTS	NORMES
<u>CARACTERES :</u>	
Aspect	Poudre blanche ou cristaux incolores.
Solubilité	Très soluble dans l'eau, très peu soluble dans l'alcool.
<u>IDENTIFICATION :</u>	
A-Acidité	La solution S est faiblement acide.
B- Réaction (a) des phosphates	Formation d'un précipité jaune dont la coloration n'est pas modifiée par ébullition, et qui se dissout par addition de l'ammoniaque R.
Réaction (b) des phosphates	Il se développe une coloration jaune.
C- réaction (a) du sodium	Formation d'un précipité blanc et dense.
<u>ESSAI :</u>	
Aspect de la solution	La solution S est limpide et incolore.
Détermination du pH	4,2 à 4,5
Substances réductrices	la solution reste faiblement colorée en rouge.
Chlorure	200ppm
Sulfates	300ppm
Arsenic	2 ppm
Fer	10 ppm
Métaux lourds	10 ppm
Perte à la dessiccation	21,5 à 24,0
<u>DOSAGE :</u>	
Par titrimétrie (calculé par rapport à la substance desséchée).	98,0 à 100,5

Propylène glycol (tab-13)

Référence : Pharmacopée Européenne 2002, 4^{ème} édition

TESTS	NORMES
<u>CARACTERES :</u>	Liquide, visqueux, limpide, incolore et Hygroscopique. Miscible à l'eau et à l'alcool.
Aspect	
Solubilité	
<u>IDENTIFICATION:</u>	1,035 à 1,040
A. Densité relative	1,431 à 1,433
B. Indice de réfraction:	184,0°C à 189,0°C
C. Point d'ébullition	123,0°C à 128,0°C
D. Point de fusion	
<u>ESSAI :</u>	Limpide et incolore
Aspect de la solution	1,035 à 1,040
Densité	1,431 à 1,433
Indice de réfraction	$V_{\text{NaOH } 0,1\text{M}} - 0,05\text{ml}$.
Acidité	$V_{\text{thiosulfate de sodium } 0,05\text{M}} - 0,2\text{ml}$.
Substances oxydantes	la solution ne présente aucune modification de l'aspect ou de la couleur
Substances réductrices	
Métaux lourds	5ppm
Teneur en eau	0,2%
Cendres sulfuriques	0,01%

Hydroxyde de sodium (Soude caustique) (tab-14)

Référence : Pharmacopée Européenne 2002, 4^{ème} édition

TESTS	NORMES
<p><u>CARACTERES :</u> Aspect</p>	<p>Masse blanche à structure cristalline, présente sous forme de pastille, de cylindre ou de plaques déliquescentes absorbant facilement le dioxyde de carbone.</p>
<p>Solubilité</p>	<p>Très soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool</p>
<p><u>IDENTIFICATION :</u> A. pH B. Réaction (a) du sodium</p>	<p>≥11,0 La flamme devient jaune.</p>
<p><u>ESSAI :</u> Aspect de la solution Les carbonates Les chlorures Sulfates Fer Métaux lourds :</p>	<p>La solution est limpide et incolore ≤ 2, 0%. □50ppm. □ 50ppm. □10ppm. □ 20ppm.</p>
<p><u>DOSAGE :</u> Par titrimétrie</p>	<p>97,0 % à 100,5 %</p>

Ethanol (Alcohol) (tab-15)

Référence : USP 25^{ème} édition

TESTS	NORMES
<u>CARACTERES :</u>	
Aspect	Liquide incolore, limpide, mobile, volatil et inflammable, d'odeur caractéristique provoque une sensation de brûlure sur la langue, facilement volatil même à basse température, sa température d'ébullition est de 78°C.
Miscibilité	Miscible à l'eau et pratiquement dans tous les solvants organique.
<u>IDENTIFICATION :</u>	
A. Réaction chimique	Présence d'une coloration bleu intense sur le papier filtre qui devient pale après quelques minutes.
B. Réaction chimique	Dégagement d'une odeur d'iode et apparition d'un précipité jaune dans les 30 minutes qui suivent.
<u>ESSAI :</u>	
Densité	0,812 à 0,816
Acidité	le virage au rose pale ne nécessite pas plus de 0,9 ml de NaOH 0,02N.
Résidu non volatile	≤ 1,0 mg
Substances insolubles dans l'eau	le mélange reste clair pendant 30 minutes après refroidissement à 10°C.
Aldéhyde et autres substances organiques étrangères	apparition d'une couleur rose qui ne disparaît pas complètement.
Alcool amylique et substances carbonisables non volatiles	l'addition de quelques gouttes d'acide sulfurique ne provoque pas de coloration immédiate rouge ou brune. Après dégagement des dernières traces d'alcool, aucune odeur étrangère ne se dégage
Acétone et alcool isopropylique	La coloration rose de la solution à examiner n'est pas plus intense que la solution témoin.
Méthanol	La coloration violette n'apparaît pas
<u>DOSAGE :</u>	
Teneur en éthanol par alcoométrie	94,9 % à 96,0 %

Eau pour préparation injectable (tab-16)
 Référence : Pharmacopée Européenne 2002, 4^{ème} édition

TESTS	NORMES
<u>CARACTERES :</u>	
Aspect	Liquide limpide, incolore, inodore et insipide.
<u>ESSAI :</u>	
Nitrates	0,2 ppm
Carbone organique	0,5mg/l
Conductivité	1,1 μ s. cm ⁻¹ à 20°C
Métaux lourds	0,1ppm

2. Excipients décrits dans une pharmacopée(tab-17)

Désignation	N° de lot	Date de fabrication	Date de péremption	Référence
Alcool benzylique	04BP111 MEN &FELS	07/2004	12/5005	Pharmacopée Européenne 2002
Nicotinamide	04BP094 ROCHE	10/2003	10/2006	Pharmacopée Européenne 2002
Propylène glycol	05BP005 MEDEXPORT	06/2004	06/2007	Pharmacopée Européenne 2002
Dihydrogénophosphate de sodium dihydraté	46831 MEDEXPORT	06/2004	06/2009	Pharmacopée Européenne 2002
Acide chlorhydrique	K137 PROLABO	//	//	Pharmacopée Européenne 2002
Hydroxyde de sodium	05SP012 RHODIA	//	//	Pharmacopée Européenne 2002
Ethanol	05BP022 Sec des	//	//	USP 5 ^{ème} édition
Eau pour préparation Injectable	2350 ANTIBIOTICAL	07/05	07/09	Pharmacopée Européenne 2002

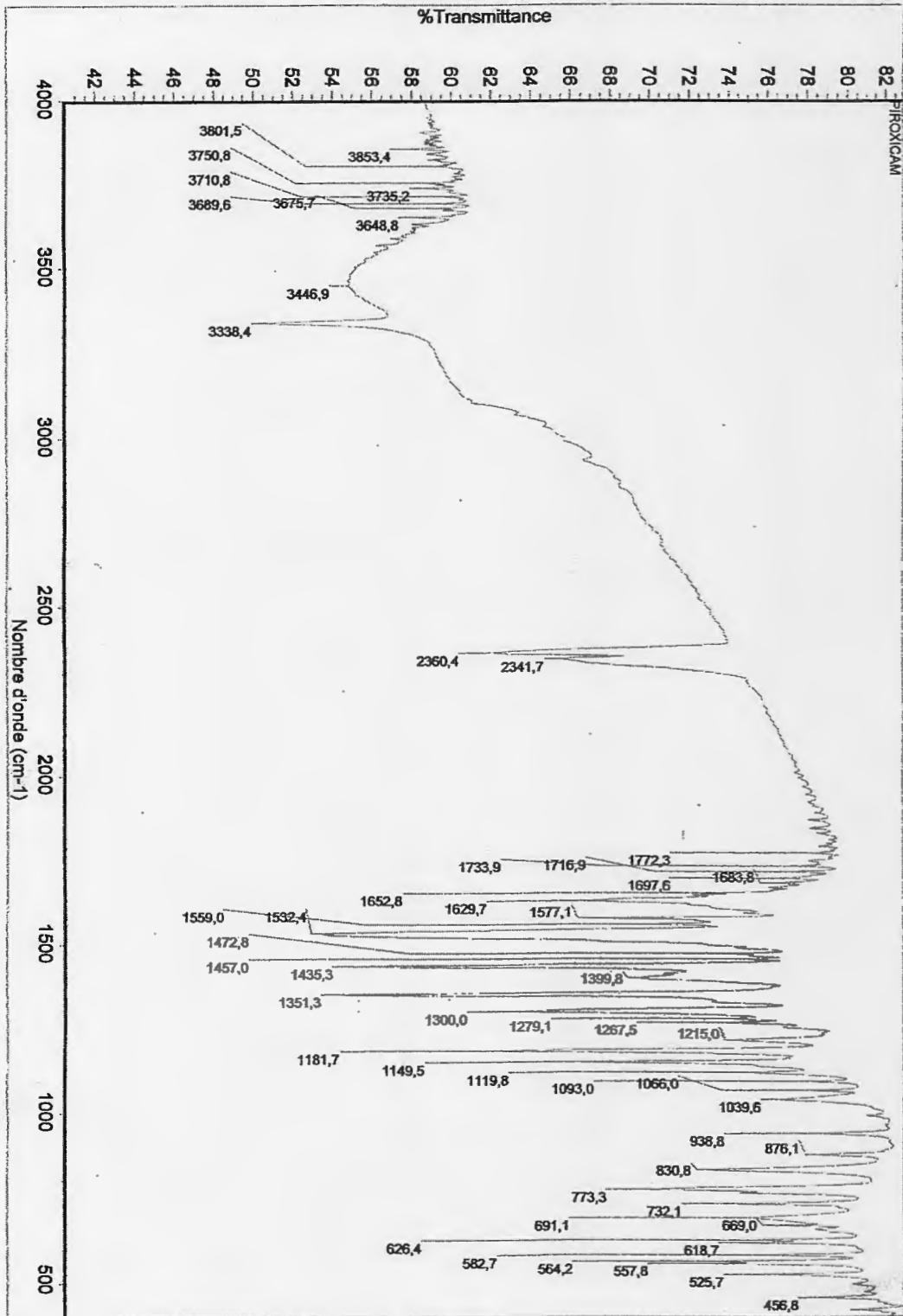


Figure 7. Identification par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge.

Nom du produit = piroxicam
 N° lot : 1013
 Fournisseur : AMSA

Test : Toxicité aigue
 (DL50)

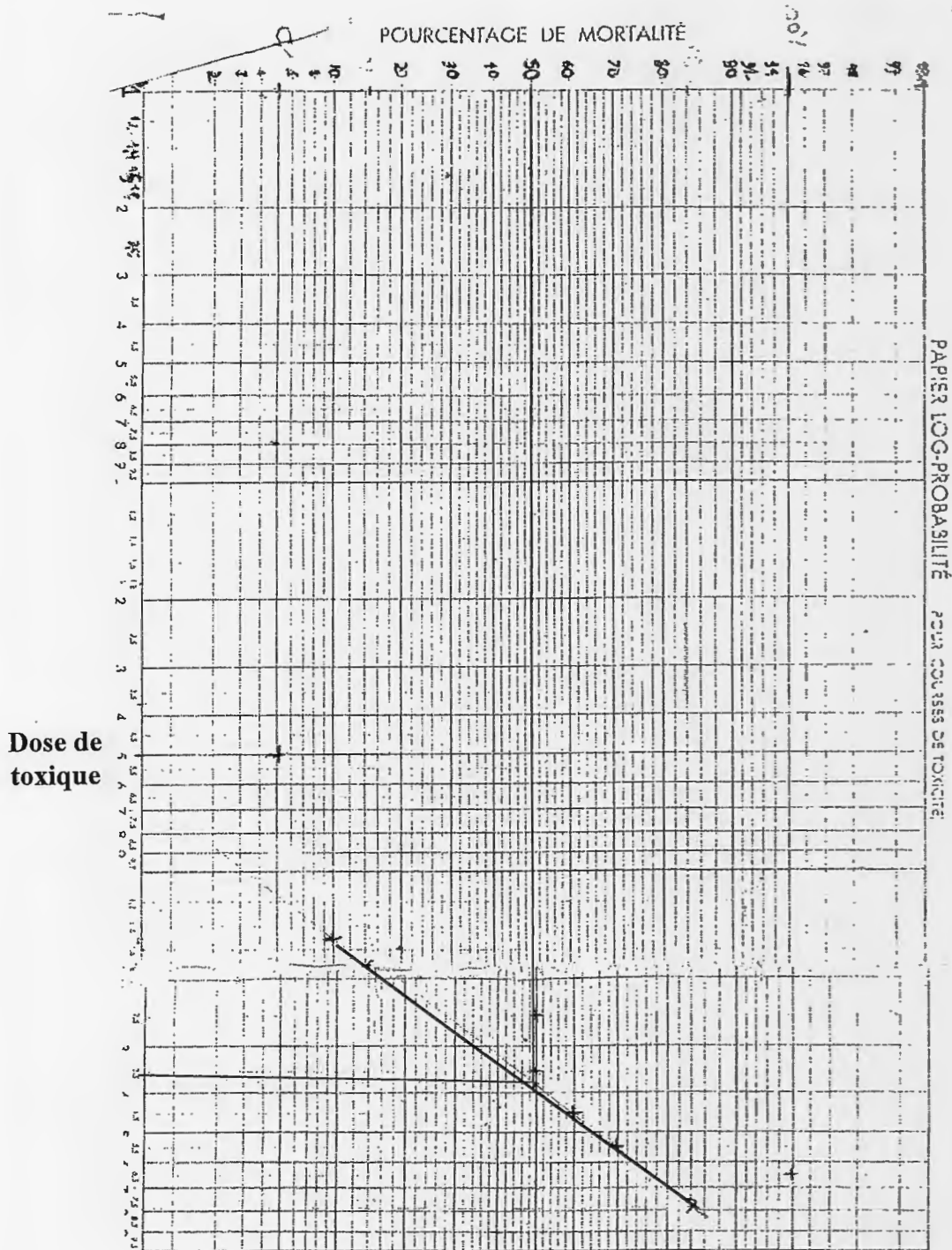


Figure 8. Droite de toxicité aigue de la piroxicam



Unité steritest (T H A LA 2.10)



Test hémolyse

Résumé

L'Assurance Qualité est une exigence réglementaire dans le domaine pharmaceutique. Elle est obtenue grâce aux contrôles de l'innocuité, la stabilité et la qualité thérapeutique effectués à différentes étapes du développement des médicaments. A ce sujet, le renforcement des capacités et de maîtrise de contrôle de la qualité doit être une priorité des autorités de Santé des Pays en développement s'ils veulent fournir à leurs populations des médicaments de qualité.

Notre étude entre dans ce cadre et a pour but l'application des règles de contrôle de la qualité des solutés injectables. L'étude a été réalisée lors de la conception et du développement d'un nouveau médicament générique: pxiXam®, forme injectable, par le Centre de Recherche et de Développement (CRD) du Groupe Saïdal. Le contrôle a été effectué aux différents stades de sa fabrication (avant, pendant et après la fabrication) par la vérification physico-chimique, microbiologique et toxicologique des matières premières, des articles de conditionnement et du produit fini.

Les résultats obtenus montrent la conformité aux normes de qualité (Pharmacopée Européenne et Monographies internes) du piroxicam (pxiXam 20mg).

Mots Clés : Médicament ; soluté injectable ; contrôle de qualité ; piroxicam ; groupe Saïdal

Abstract

Quality assurance is a regulatory requirement in the pharmaceutical field. It is achieved through monitoring of the safety, stability and quality of treatment carried out at different stages of drug development. In this regard, capacity building and ownership of quality control must be a priority for health authorities of developing countries if they want their people to provide quality medicines.

Our study falls within this framework and seeks enforcement of quality control of injectable solutions. The study was conducted during the design and development of a new generic drug: pxiXam ®, injectable form by the Center for Research and Development (CRD) Group Saïdal. The audit was conducted at different stages of its manufacture (before, during and after manufacture) by checking physical-chemical, microbiological and toxicological safety of raw materials, packaging items and finished product.

The results show compliance with quality standards (European Pharmacopoeia monographs and internal) of piroxicam (pxiXam 20mg).

Keywords: Drug; injection; quality control; piroxicam; group Saïdal

ملخص

إن التأمين النوعي مطلب ملح وأساسي في الصناعات الصيدلانية، يهدف للحصول على الجودة العالية للمنتوج وكذلك الرعاية الصحية للمجتمع. لذا يتطلب وضع سياسة صارمة في الإنتاج ومراقبة الجودة من خلال تطبيق قواعد حسن التصنيع والتحاليل.

تتم المراقبة على المواد الأولية، المواد نصف مصنعة، والمنتوج النهائي بما فيه عناصر التعبئة والتغليف من أجل ضمان جودة عالية وأمان المنتوج.

في دراستنا قمنا بإنجاز مراقبة ضد التسمم ومراقبة مكروبيولوجية وفيزيوكيميائية لدواء (بيروكسيكام) المصنع من طرف مركب صيدال.

وهذه المراقبة تمت بإنجاز مختلف التجارب الموضحة في بحثنا لغرض إثبات أن الدواء آمن وغير سام ومعقم وتحصلنا على نتائج مطابقة للنظم المعمول بها.

كلمات المفتاح : الدواء، محلول الحقن، مراقبة الجودة، بيروكسيكام، مجمع صيدال.