

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université M. BOUGARA - Boumerdes**  
**Faculté des Sciences de l'Ingénieur**  
**Département de Génie des Procédés Industriels**

## **Mémoire**

Présenté par

**BERROUAG Moncef**  
**GANDI Hichem**

Pour l'obtention du diplôme de

## **MASTER**

Filière : GENIE DES PROCEDES INDUSTRIELS  
Spécialité : PROCEDES ORGANIQUES ET MACROMOLECULAIRES

**Contrôle de Qualité physico-chimique, microbiologique  
et toxicologique de l'Acide Folique (comprimé ZANITRA® 5mg)**

**Soutenu le 15/06/2017**

Devant le jury composé de :

|                |      |                |              |
|----------------|------|----------------|--------------|
| Mr AKSAS H.    | MCA  | UMBB Boumerdes | Président    |
| Mme GUEMATI D. | MCA  | UMBB Boumerdes | Examinatrice |
| Mr ALIOUCHE D. | PROF | UMBB Boumerdes | Promoteur    |

***PROMOTION : 2016/2017***

## **DEDICACES**

*Je dédie ce mémoire à ma défunte grand-mère maternelle que dieu ait son âme, et à mes très chers parents qui m'ont aidé et soutenu tout au long de mes études.*

*Je le dédie également à tous mes amis spécialement, Hichem, Walid, Lyes et Kenza.*

**Moncef**

## **DEDICACES**

*Je tiens à dédier ce mémoire à mes très chers parents que je remercie beaucoup pour m'avoir soutenu et encouragé tout au long de mes études.*

*Je le dédie également à toute ma famille sans exception surtout à ma grand-mère maternelle, ainsi que tous mes amis.*

**Hichem**

## **REMERCIEMENTS**

*En premier lieu, nous remercions Dieu le tout puissant, le miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail dans de meilleures conditions.*

*En second lieu, nous tenons à remercier vivement notre promoteur **Mr ALIOUCHE D.**, Professeur au département de génie des procédés industriels Université Mohammed Bougara Boumerdes faculté des sciences de l'ingénieur, pour l'honneur qu'il nous ait fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous remercions particulièrement notre co-promotrice **Mme LATRECHE F.**, analyste au niveau de laboratoire de contrôle de qualité de l'unité Biotic de SAIDAL, de nous avoir guidés tout au long de la réalisation de ce travail, et pour sa gentillesse.*

*Nous tenons également à présenter nos plus vifs remerciements à **Mr AKSAS H.**, chef de département de génie des procédés industriels Université Mohammed Bougara Boumerdes faculté des sciences de l'ingénieur, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider le jury.*

*Nous remercions le chef de service du laboratoire de physicochimie, **Mr NOUES Salim**, et tout le personnel de l'unité de Biotic pour nous avoir accueilli et facilité grandement notre stage au sein de son laboratoire.*

*Nous remercions tous les enseignants particulièrement **Mme BAAZIZ F. et Mme ACHELI D.** ainsi que tout le personnel du département de génie des procédés industriels.*

## Glossaire

**Antibiotiques** : Sont des médicaments entièrement synthétisés qui ont la propriété de tuer des micro-organismes vivants ou d'empêcher leur prolifération.

**Bactéries Mésophiles** : Sont des bactéries qui croissent à des températures comprises entre 20 et 40°C.

**Diluant** : C'est un excipient utilisé dans la formulation d'un comprimé ou d'une gélule, notamment pour l'industrie pharmaceutique, il sert à obtenir un volume de poudre suffisant pour fabriquer un comprimé de la taille désirée.

**Endocardites** : Inflammation de l'endocarde, tunique interne du cœur, tapissant les cavités et constituant les valvules située entre ces dernières.

**Erythropoïèse** : Est le processus de production des érythrocytes (ou globules rouges) dans la moelle osseuse à partir de cellules souches indifférenciées.

**Fièvre typhoïde** : Est une infection bactérienne transmissible, habituellement provoquée par la salmonelle, que l'on trouve dans le lait, la nourriture ou l'eau contaminés.

**Folliculite** : Est le terme médical utilisé pour décrire une inflammation des follicules pileux ou autres.

**Furoncles** : Sont des boutons sous-cutanés enflammés et emplis de pus. Ils apparaissent généralement à la suite de l'infection d'un follicule pileux. Le germe responsable est le staphylocoque doré.

**Hypovitaminose** : Affection due à la diminution dans la ration alimentaire des vitamines indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.

**Impétigo** : Affection fréquente et contagieuse de la peau, caractérisée par la formation de pustules dont le liquide jaunâtre s'échappe et forme une croûte jaune miel épaisse. Elle est due à des bactéries (streptocoque ou staphylocoque) et atteint principalement le visage.

**Liant** : C'est un produit qui sert à agglomérer en masse solide, des particules solides sous forme de poudre et permet la cohésion entre elles.

**Lubrifiant** : Excipient dont le rôle est essentiellement destiner à faciliter la compression des comprimés.

**Lyophilisation** : Dessiccation d'un produit préalablement surgelé, par sublimation. Le solvant sublimé est généralement de l'eau, mais ce peut être également un alcool.

**Pharmacopée** : Est un ouvrage réglementaire destiné aux professionnels de santé qui définit les critères de pureté des matières premières ou de préparations entrant dans la fabrication des médicaments ainsi les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer leur contrôle.

**Sinusite** : Inflammation aiguë ou chronique des sinus de la face (cavités osseuses situées dans les os du visage).

# SOMMAIRE

|                                                    |          |
|----------------------------------------------------|----------|
| Liste des abréviations.....                        | i        |
| Liste des figures.....                             | ii       |
| Liste des tableaux.....                            | iii      |
| <b>Introduction.....</b>                           | <b>1</b> |
| <b>Présentation du site de travail SAIDAL.....</b> | <b>2</b> |
| 1) PHARMAL.....                                    | 2        |
| 2) ANTIBIOTICAL.....                               | 3        |
| 3) BIOTIC.....                                     | 3        |
| <b>Partie théorique</b>                            |          |
| <b>I) Généralités sur les médicaments</b>          |          |
| I.1) Définition d'un médicament.....               | 4        |
| 1.1) Juridique.....                                | 4        |
| 1.2) Pharmacologique.....                          | 4        |
| I.2) Mise en forme d'un médicament.....            | 4        |
| 2.1) Principe actif.....                           | 4        |
| 2.2) Excipient.....                                | 4        |
| I.3) Dénomination d'un médicament.....             | 5        |
| I.4) Conditionnement d'un médicament.....          | 5        |
| I.5) Source des médicaments.....                   | 6        |
| 5.1) Médicaments d'origine minérale.....           | 6        |
| 5.2) Médicaments d'origine biotechnologique.....   | 6        |
| 5.3) Médicaments d'origine microbiologique.....    | 6        |
| 5.4) Médicaments d'origine synthétique.....        | 6        |
| I.6) Voies d'administration des médicaments.....   | 6        |

|                                                    |    |
|----------------------------------------------------|----|
| I.7) Comprimés.....                                | 7  |
| 7.1) Définition.....                               | 7  |
| 7.2) Avantages et inconvénients des comprimés..... | 7  |
| I.8) Vitamines.....                                | 7  |
| I.9) Médicaments antianémiques.....                | 8  |
| <b>II) ZANITRA</b>                                 |    |
| II.1) Présentation du médicament ZANITRA® 5mg..... | 9  |
| II.2) Composition.....                             | 9  |
| II.3) Principe actif (acide folique).....          | 10 |
| 3.1) Définition.....                               | 10 |
| 3.2) Structure chimique de l'acide folique.....    | 10 |
| 3.3) Caractère.....                                | 11 |
| 3.4) Propriétés pharmacocinétiques.....            | 11 |
| 3.5) Propriétés pharmacodynamiques.....            | 11 |
| 3.6) Posologie et mode d'administration.....       | 11 |
| 3.7) Indications et contres indications.....       | 11 |
| 3.8) Effets indésirables.....                      | 12 |
| 3.9) Surdosage.....                                | 12 |
| II.4) Présentation des excipients.....             | 13 |
| 4.1) L'amidon de maïs.....                         | 13 |
| 4.2) Phosphate bicalcique.....                     | 13 |
| 4.3) Stéarate de magnésium.....                    | 13 |
| <b>III) Contrôle de qualité</b>                    |    |
| III.1) Définition de qualité.....                  | 14 |
| III.2) Contrôle de qualité.....                    | 14 |
| III.3) Assurance de qualité.....                   | 14 |
| 3.1) Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF).....    | 14 |
| 3.2) Bonnes Pratiques Cliniques (BPC).....         | 15 |

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| III.4) Niveaux de contrôles.....    | 15 |
| 4.1) Contrôle physico-chimique..... | 15 |
| 4.2) Contrôle microbiologique.....  | 15 |
| 4.3) Contrôle toxicologique.....    | 15 |

## Partie pratique

### I) Matériels et méthodes de contrôle

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| I.1) Matériel d'étude.....                                                    | 16 |
| I.2) Méthodes.....                                                            | 16 |
| 2.1) Echantillonnages.....                                                    | 16 |
| 2.2) Contrôle physico-chimique des matières premières et du produit fini..... | 17 |
| 2.2.1) Matières premières.....                                                | 17 |
| 2.2.1.1) Acide folique (principe actif).....                                  | 17 |
| 2.2.1.2) Amidon de maïs (excipient).....                                      | 21 |
| 2.2.2) Le produit fini.....                                                   | 25 |
| 2.2.2.1) Caractère organoleptique.....                                        | 25 |
| 2.2.2.2) Identification.....                                                  | 25 |
| 2.2.2.3) Essais limites.....                                                  | 25 |
| 2.3) Contrôle microbiologique du produit fini.....                            | 32 |
| 2.3.1) Dénombrement des germes viables totaux.....                            | 32 |
| 2.3.1.1) Recherche des bactéries viables totales.....                         | 32 |
| 2.3.1.2) Recherche des levures et moisissures.....                            | 33 |
| 2.3.2) La recherche des micro-organismes spécifiques.....                     | 34 |
| 2.3.2.1) Recherche des entérobactéries.....                                   | 34 |
| 2.3.2.2) Recherche d' <i>Escherichia coli</i> .....                           | 36 |
| 2.3.2.3) Recherche des <i>staphylococcus aureus</i> .....                     | 36 |
| 2.3.2.4) Recherche des <i>salmonelles</i> .....                               | 37 |
| 2.3.3) Limites d'acceptation.....                                             | 37 |
| 2.4) Contrôle toxicologique.....                                              | 38 |



## **II) Résultats et discussion**

|                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.1) Résultats de contrôle physico-chimique des matières premières et du produit fini..... | 40        |
| 1.1) Résultats de l'acide folique.....                                                      | 40        |
| 1.2) Résultats de l'amidon de maïs.....                                                     | 44        |
| 1.3) Résultats de contrôle physico-chimique du produit fini.....                            | 47        |
| II.2) Résultats de contrôle microbiologique du produit fini.....                            | 50        |
| II.3) Résultats de contrôle toxicologique du produit fini.....                              | 52        |
| <b>Conclusion.....</b>                                                                      | <b>53</b> |

## **Références bibliographiques**

## **Les ANNEXES**

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**AF** : Acide Folique.

**ANSM** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament.

**BPC** : Bonnes Pratiques de Clinique.

**BPF** : Bonnes Pratiques de Fabrication.

**BPLS** : Gélose vert Brillant-rouge de Phénol-Lactose-Saccharose.

**BVT** : Bactéries Viables Totales.

**CP** : Comprimé.

**CQ** : Contrôle de Qualité.

**CS** : Cendres Sulfuriques.

**DCI** : Dénomination Commune Internationale.

**GDC** : Gué de Constantine.

**Gélose CASO** : Gélose de Caséine de Soja.

**GR** : Globules Rouges.

**HPLC** : Chromatographie Liquide Haute Performance.

**MP** : Matières Premières.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**PA** : Principe Actif.

**PE** : Pharmacopée Européenne.

**R** : pure.

**SCR** : Substance Chimique de Référence.

**TBG** : Tétra-thionate-Bile-vert-brillant.

**Te** : Teneur en eau.

**UFC** : Unité Formant Colonie.

**VRBG** : Gélose glucosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre.

**XLD** : Xylose-lysine-Désoxycholate.

## Liste des figures

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1</b> : Eléments indicatifs sur l'étui d'un médicament sous forme de comprimé.....          | 5  |
| <b>Figure 2</b> : Etui de ZANITRA® 5mg.....                                                           | 9  |
| <b>Figure 3</b> : Comprimé de ZANITRA® 5mg.....                                                       | 9  |
| <b>Figure 4</b> : Acide folique.....                                                                  | 10 |
| <b>Figure 5</b> : Structure chimique de l'acide folique.....                                          | 10 |
| <b>Figure 6</b> : Amidon de maïs.....                                                                 | 13 |
| <b>Figure 7</b> : Schéma de principe d'une chaîne d'HPLC.....                                         | 18 |
| <b>Figure 8</b> : Schéma de préparation de la solution examinée pour le dosage par HPLC.....          | 19 |
| <b>Figure 9</b> : Schéma de préparation de la solution témoin « a » pour le dosage par HPLC.....      | 19 |
| <b>Figure 10</b> : Schéma de préparation de la solution témoin « b » pour le dosage par HPLC.....     | 20 |
| <b>Figure 11</b> : Caryopse de Zea de Maïs L.....                                                     | 21 |
| <b>Figure 12</b> : Schéma de préparation de la solution pour le Fer.....                              | 22 |
| <b>Figure 13</b> : Schéma de préparation de la solution témoin pour le fer.....                       | 22 |
| <b>Figure 14</b> : Schéma de préparation de la teneur en substances oxydantes.....                    | 23 |
| <b>Figure 15</b> : Spectrophotomètre UV 1800 Shimadzu.....                                            | 25 |
| <b>Figure 16</b> : Délimètre (Appareil de désagrégation).....                                         | 27 |
| <b>Figure 17</b> : Dissolu-test ERWEKA Dt-600.....                                                    | 28 |
| <b>Figure 18</b> : Schéma de préparation de la solution étalon pour le test de dissolution.....       | 29 |
| <b>Figure 19</b> : Schéma de procédure de dissolution.....                                            | 29 |
| <b>Figure 20</b> : Schéma de préparation de la solution essai pour le dosage de l'acide folique.....  | 30 |
| <b>Figure 21</b> : Schéma de préparation de la solution étalon pour le dosage de l'acide folique..... | 31 |
| <b>Figure 22</b> : Dénombrement des bactéries viables totales et des levures et moisissures.....      | 34 |
| <b>Figure 23</b> : Différentes étapes de la recherche et d'identification des entérobactéries.....    | 35 |
| <b>Figure 24</b> : Souris Swiss de race Albinos.....                                                  | 38 |
| <b>Figure 25</b> : Chromatogramme de la solution témoin « b » pour le dosage de l'AF par HPLC.....    | 42 |
| <b>Figure 26</b> : Chromatogramme de la solution essai pour le dosage de l'AF par HPLC.....           | 43 |

## Liste des tableaux

|                                                                                                                         |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Tableau 1</b> : Avantages et inconvénients des comprimés.....                                                        | 7     |
| <b>Tableau 2</b> : Les principaux types de vitamines et les conséquences de leurs carences dans l'organisme vivant..... | 8     |
| <b>Tableau 3</b> : Les poids des matières premières pour un lot de 100kg et leurs différents rôles.....                 | 9     |
| <b>Tableau 4</b> : Limites d'acceptation.....                                                                           | 37    |
| <b>Tableau 5</b> : Résultats de l'analyse physico-chimique de l'acide folique.....                                      | 40    |
| <b>Tableau 6</b> : Résultats chromatographiques du témoin pour le dosage de l'AF pure.....                              | 42    |
| <b>Tableau 7</b> : Résultats chromatographiques de la solution essai pour le dosage de l'AF pure....                    | 43    |
| <b>Tableau 8</b> : Résultats de l'analyse physico-chimique de l'amidon de maïs.....                                     | 45    |
| <b>Tableau 9</b> : Résultats de l'analyse physico-chimique du produit fini.....                                         | 47-48 |
| <b>Tableau 10</b> : Résultats d'analyse microbiologique du produit fini.....                                            | 50    |
| <b>Tableau 11</b> : Résultats de contrôle toxicologique du produit fini.....                                            | 52    |

## INTRODUCTION

Un médicament est une substance ou composition ayant des propriétés thérapeutiques ou prophylactiques consacrées à soigner, à soulager ou à prévenir des maladies humaines ou animales.

L'industrie pharmaceutique d'après **Goetz-Lopes (2007)**, se doit d'élaborer leur production dans des circonstances garantissant leur sécurité et leur qualité, et de les répandre mondialement où ils peuvent contribuer à la santé des êtres humains.

L'assurance de la qualité apposée à la conception des médicaments et assurant particulièrement la bonne coordination des activités de production et de contrôle est indispensable pour que le consommateur reçoive des médicaments approuvables aux normes.

De ce fait, le rôle des laboratoires de contrôle de la qualité est de valider, par des essais adéquats, que les médicaments concordent aux normes de qualité demandées, le rôle des bons procédés de fabrication est d'acheminer des produits pharmaceutiques.

La fiabilité de la qualité des médicaments génériques et de leur concordance aux revendications légitimes est un point essentiel pour leur productivité pharmaceutique.

Ces conditions complémentaires (Qualité, Efficacité et Assurance) peuvent durement être séparées et éclairent la qualité, au sens large du terme.

Des contrôles sont destinés à des matières variées tel que : les matières premières entrant dans l'ensemble du produit, le produit en cours de fabrication, produit fini...etc.

Ces examens doivent être vérifiés ou appropriés aux normes qui sont évoquées dans les pharmacopées.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés d'accomplir ce travail de fin d'étude qui est réalisé au laboratoire de contrôle de qualité à l'unité SAIDAL, BIOTIC (Gué de Constantine), sur un médicament non obligatoirement stérile « ZANITRA 5mg » sous forme comprimé (DCI : Acide Folique), dont le but est :

- D'effectuer un contrôle physicochimique de la matière première et du produit fini.
- De contrôler la qualité microbiologique et toxicologique du produit fini, afin d'estimer la bonne qualité de ce médicament relativement aux besoins décrits par la pharmacopée Européenne 2008.

Ce mémoire de fin d'études est organisé autour de trois (03) chapitres :

- D'abord nous présentons des généralités sur les médicaments.
- Ensuite nous nous sommes intéressés en particulier à un médicament non obligatoirement stérile « ZANITRA® 5mg » dont nous décrivons la production et le contrôle de qualité.
- Enfin le dernier chapitre est consacré à la partie pratique qui concerne les tests de contrôles physico-chimique, microbiologique et toxicologique que nous avons réalisés sur ce médicament.

## **Présentation du site de travail « SAIDAL » :**

SAIDAL est une société par actions, au capital de 2.500.000.000 dinars algériens, dont l'objectif primordial est d'accroître, de créer et de distribuer des produits pharmaceutiques à usage humain et vétérinaire.

Sa vision demeure dans son habilité de voir le futur et garantir la position d'un laboratoire leader aux niveaux national et régional tout en perçant le marché international.

La pharmacie centrale algérienne a été instaurée en 1969 par un décret présidentiel lui confiant la mission de garantir l'exclusivité de l'Etat sur l'importation, la conception et la distribution des produits pharmaceutiques à usage humain. Dans le cadre de sa mission de production, elle a été conçue en 1971 l'unité de production d'el Harrach et rachetée en deux périodes (1971 puis 1975) les unités BIOTIC et PHARMAL. A la suite de réorganisation de la pharmacie centrale algérienne, son domaine de production fut élevé en entreprise nationale de production pharmaceutique par le décret 82/161, divulgué en avril 1982. Son capital était constitué par les unités de fabrication d'Alger. Le projet antibiotique de Médéa, qui appartenait alors à la SNIC (Société Nationale des Industries Chimiques), qui en avait garanti l'accomplissement, lui fut assimilé en 1988 (les actions relatives à cette transaction ayant début 1986). L'Entreprise Nationale de Production Pharmaceutique avait pour objectif de garantir le monopole de la fabrication et de la commercialisation des médicaments, des produits inclus et des réactifs et pour but de ravitailler de façon présomptueuse et légitime le commerce algérien. Elle changea de nom en 1985 pour devenir SAIDAL. En 1989, suite à la mise en œuvre des améliorations avantageuses, SAIDAL devint une société notoire économique munie de l'indépendance de gestion et fut optée, parmi les premières entreprises nationales, afin d'obtenir le statut de société par actions. En 1993 des modifications ont été livrées aux statuts de l'entreprise lui permettant de contribuer à toutes actions industrielles ou commerciales pouvant se joindre à l'objet social par moyen de conception de nouvelles industries ou de filiales. En 1997, la société SAIDAL a mis en œuvre un programme de modification qui s'est manifesté par sa transformation en groupe industriel le 02 février 1998 auxquelles sont conciliées trois filiales : PHARMAL, ANTIBIOTICAL, BIOTIC originaires de cette réorganisation.

### **1) PHARMAL :**

PHARMAL dispose de trois usines de production et d'un laboratoire de contrôle de la qualité qui assure des prestations pour ces unités ainsi que pour des clients externes.

#### **1. Usine Dar El BEIDA :**

Elle produit une large gamme de médicaments sous plusieurs formes galéniques.

#### **2. Usine Constantine :**

Elle dispose de deux ateliers spécialisés dans la production de sirops.

#### **3. Usine Annaba :**

Cette usine est spécialisée dans la fabrication des formes sèches.

## **2) ANTIBIOTICAL :**

Cette filiale située à Médéa, est dotée de toutes les installations nécessaires à la production d'antibiotiques pénicilliniques et non pénicilliniques.

Elle dispose de deux unités de semi-synthèse pour les produits oraux et injectables, d'une entité pour les spécialités pharmaceutiques et de deux bâtiments : l'un consacré aux produits pénicilliniques, l'autre aux non pénicilliniques.

## **3) BIOTIC :**

BIOTIC est l'une des trois filiales originaire de la restructuration de l'entreprise SAIDAL en groupe industriel le 02 février 1998. Sa grande compétence et son agilité connue dans la production pharmaceutique ainsi que ses équipements originaux lui accordant de produire un éventail très large de médicaments.

La filiale BIOTIC possède trois usines de fabrication : El Harrach, Cherchell, Gué de Constantine.

### **1. Usine El Harrach :**

Elle dispose de quatre ateliers de production : sirops, solutions, comprimés et dragées, pommades.

### **2. Usine Cherchell :**

Elle dispose de trois ateliers de production : sirops, formes sèches (comprimés, poudres en sachets, gélules) et concentré d'hémodialyse.

### **3. Usine Batna :**

Elle est consacrée à la production des suppositoires.

### **4. Usine Gué de Constantine :**

BIOTIC GDC avec une aptitude de production de plus de 18 millions unités de vente.

Producteur Algérien exclusif des solutés massifs, elle se compose de deux parties distinctes : l'une pour la fabrication des formes galéniques : ampoules, suppositoires et comprimés l'autre, équipée d'une technologie récente et spécialisée dans la fabrication des solutés massifs ; flacons et poches.

Cette usine est équipée d'un laboratoire de contrôle de la qualité chargé de l'analyse physico-chimique, microbiologique et toxicologique, de cinq ateliers de production dont celui des comprimés et dragées avec un ressort de production de 3.59 millions unités de vente (UV) et enfin de la gestion technique et instructive de la production et du contrôle.

## **PARTIE THEORIQUE**

### **I) Généralités sur les médicaments :**

#### **1) Définition d'un médicament :**

##### **1.1) Juridique :**

On entend par médicament toute matière ou structure présentée comme disposant des propriétés thérapeutiques ou prophylactique vis-à-vis des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être employée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être apposée, afin d'établir un diagnostic médical ou d'améliorer, de réparer ou réformer leurs fonctions corporelles en exerçant une action métabolique, immunologique ou pharmacologique. **(Aiache et al., 2008).**

##### **1.2) Pharmacologique :**

Un médicament est composé d'une substance active et de « substances inertes » convenables à la voie d'administration à laquelle il est acquis, appelées excipients. La substance active est présente à une concentration indiquée appelée dosage. Il dispose des propriétés pharmacologiques qu'il entreprend sur une cible organique ou fonctionnelle dans lequel les révélations curatives ou thérapeutiques s'ensuivront. **(Stora, 2010).**

#### **2) Mise en forme du médicament :**

##### **2.1) Principe actif (substance active) :**

Le principe actif, ou substance actif, est la molécule entrant dans la composition d'un médicament qui lui confère ses effets curatifs. Un médicament peut comporter un ou plusieurs principes actifs. **(Meunier, 2003).**

##### **2.2) Excipient :**

C'est un composé supposé biologiquement inerte qui sert d'appui ou de vecteur à une substance. Il joue un rôle dans la composition, la forme, le goût, la couleur, la conservation des médicaments, le dégagement du principe actif au site d'administration et la résorption. Tous les éléments entrant dans la composition d'un médicament, autres que le principe actif, sont généralement des excipients. **(ANSM, 2013).**



### 3) Dénomination d'un médicament :

Tout médicament est caractérisé par la désignation chimique de son principe actif, la Dénomination Chimique Internationale (D.C.I) est un ou divers noms de marque aussi appelés noms de fantaisie (**Dessaïgne, 2004**), (Voir figure 1).

Le nom chimique est l'interprétation exacte de la molécule chimique du médicament. Il n'est pas employé en pratique habituelle. La DCI est le nom abrégé de la molécule chimique. Elle est assignée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (**Aveline et al., 2000**). Le nom de « spécialité » ou « nom de marque » est conféré à une molécule par le laboratoire qui le commercialise. Une semblable molécule active est fréquemment vendue par un grand nombre de laboratoires sous de nombreux noms de spécialités distinctes.

Le signe « ® » qui joint les noms de spécialités désigne « registered » en anglais, c'est-à-dire propriété commerciale (**Aveline et al., 2000**).

Exemple :



**Figure 1 :** Eléments indicatifs sur l'étui d'un médicament sous forme de comprimés.

### 4) Conditionnement des médicaments :

D'après **Mathieu et Fonteneau (2008)** :

- Le conditionnement unitaire est constamment prioritaire pour empêcher après ouverture la détérioration du principe actif.
  - Pour les médicaments sensibles à la lumière, les flacons teintés ou les blisters sombres sont utilisés.
  - Pour les semi-solides, les tubes en aluminium sont employés.
  - Indiquer sur les emballages les préconisations concernant les conditions de préservation.
- Exemple : produits à conserver au réfrigérateur avant ou après ouverture.

## **5) Source des médicaments :**

### **5.1) Médicaments d'origine minérale :**

Plusieurs minéraux ont été, tels que les plantes, longuement employés avant la progression de la chimie organique.

Exemple : eau, argiles, talc, sulfate de magnésium, chlorure de sodium, chlorure de calcium, bicarbonate de sodium... **(Talbert et al., 2009).**

### **5.2) Médicaments d'origine biotechnologique :**

Il s'agit des procédures de synthèse extrêmement conçues faisant intervenir pour l'essentiel des techniques de génie génétique. L'objectif est de séparer des cellules vivantes (microorganismes) et de leur faire produire des produits d'intérêt curatif qu'elles ne synthétiseraient pas en temps normal. Exemple : insuline humaine, interféron **(Talbert et al., 2009).**

### **5.3) Médicaments d'origine microbiologique :**

Certains micro-organismes exploités de manière convenable sécrètent plusieurs substances utilisées en thérapeutique. Il s'agit principalement des antibiotiques, découverte capitale dans le traitement des maladies virales et infectieuses **(Talbert et al., 2009).**

### **5.4) Médicament d'origine synthétique :**

La chimie organique représente de loin une source indispensable de production des médicaments actuels. La synthèse de molécules complexes requiert généralement d'importants travaux de recherche et de mise au point par étape consécutive pour arriver à la structure voulue **(Talbert et al., 2009).**

## **6) Voies d'administration du médicament :**

C'est la voie qu'emprunte le médicament pour pénétrer dans le corps vers la circulation sanguine ou pour agir localement.

Plusieurs voies d'administration peuvent être utilisées : la voie parentérale (injectable) et la voie transmuqueuse (pulmonaire, rectale, oculaire...).

Mais la voie la plus courante est la voie orale. Le médicament est pris par la bouche, emprunte la voie digestive, parcourt la barrière intestinale pour circuler dans le sang. **(Stora, 2008).**

## 7) Comprimés :

### 7.1) Définition :

Les comprimés sont définis à la pharmacopée française comme étant « des préparations de consistance solide contenant chacun une unité de prise d'une ou de plusieurs substances actives et obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules » (**Vaubourdolle M., 2007**).

### 7.2) Avantages et inconvénients des comprimés pharmaceutiques :

Le tableau 1 résume les avantages et les inconvénients des comprimés pharmaceutiques : (**Allo O., Blanc P. et Dalmasso M.A., 2005**).

**Tableau 1 :** Avantages et inconvénients des comprimés :

| <b>Avantages</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | <b>Inconvénients</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"><li>-Emploi facile : solidité suffisante pour le transport et le conditionnement, faciles à avaler.</li><li>-Dosage précis.</li><li>-Capacité de masquer entièrement la saveur grâce à l'enrobage.</li><li>-Forme sèche : conservation facile (les matières premières sont dans un milieu sec et condensé).</li><li>-Possibilité de contrôler la libération du principe actif grâce à l'enrobage.</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>-Il y a un risque pour la muqueuse digestive si le délitement n'est pas vivement confirmé.</li><li>-Pas de principe actif liquide (c'est-à-dire le temps d'absorption dans le sang est plus lent par rapport à la voie intraveineuse ou à une solution buvable).</li><li>-Besoin d'utiliser de divers excipients qui peuvent conduire à des effets secondaires.</li><li>-Dosage définitif ne pouvant pas être modifié au cours du temps.</li></ul> |

## 8) Les vitamines :

Les vitamines sont des substances naturelles (que l'on peut préparer aujourd'hui synthétiquement), possédant des structures chimiques et des actions biologiques très diverses, mais ayant en commun la caractéristique d'être indispensables à la vie. L'organisme n'est pas capable de synthétiser les vitamines, qui doivent lui être apportées par l'alimentation ou par les compléments vitaminiques. Les doses nécessaires sont faibles. Les surdosages peuvent provoquer des troubles (hypervitaminoses).

On a l'habitude de désigner les vitamines par des lettres alphabétiques et de distinguer les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, K, F) et les vitamines hydrosolubles (toutes les autres). Les hydrosolubles sont utilisés et éliminés rapidement par le corps et doivent être apportés régulièrement, au contraire des liposolubles qui peuvent être stockés plus longtemps dans le tissu adipeux (**Encyclopédie des sciences, 1976**).

**Tableau 2 :** Les principaux types de vitamines et les conséquences de leurs carences dans l'organisme vivant :

| Désignation de la vitamine | Dérivées de la vitamine              | Conséquence de l'hypovitaminose                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Vitamine A</b>          | <b>A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub></b>  | *Kératinisation (durcissement) des tissus de l'organisme, surtout la cornée suivie d'une baisse accrue de l'acuité visuelle.                                                                                                     |
| <b>Vitamine D</b>          | <b>D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub></b>  | *Rachitisme (manque en calcium dans les os, ce qui rend les fractures très faciles).                                                                                                                                             |
| <b>Vitamine K</b>          | <b>K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub></b>  | *Hémorragies ; constipations.                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Vitamine C</b>          | <b>Aucune dérivée.</b>               | *Scorbut manifesté par : la fièvre ; l'anémie ; l'hémorragie ; chute de dents ; altération profonde de toutes les fonctions de l'organisme.                                                                                      |
| <b>Vitamine B</b>          | <b>B<sub>1</sub></b>                 | *Troubles nerveux ; douleurs musculaires.                                                                                                                                                                                        |
|                            | <b>B<sub>2</sub></b>                 | *Crampes ; kératite (inflammation de la cornée) ; dermatoses (maladies de la peau) ; asthénie musculaire (fatigue générale) ; béribéri (troubles nerveux dus à une alimentation excessive en riz, fréquents à l'extrême orient). |
|                            | <b>B<sub>6</sub></b>                 | *Dégénérescence du foie ; dermatites (inflammations de la peau).                                                                                                                                                                 |
|                            | <b>B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub></b> | <b>*Antianémiques. (objet de notre étude)</b>                                                                                                                                                                                    |

## 9) Médicaments Antianémiques :

Les antianémiques sont des médicaments capables de stimuler la formation des globules rouges (augmentation de l'érythropoïèse). Ils perfectionnent la captation et le transport de l'oxygène par l'hémoglobine des globules rouges (**Stora, 2010**).

Ils facilitent la synthèse de l'hémoglobine par un apport en fer, vitamine B12, acide folique, car l'absence de chacun de ces éléments joue un rôle crucial dans l'anémie (**Stora, 2008**). D'autre part l'anémie se définit selon **Marolla et al. (2008)**, qu'il s'agit d'un appauvrissement du taux d'hémoglobine dans le sang et non pas d'une baisse du nombre de globules rouges (GR).

Un sang peut avoir un nombre restreint de GR néanmoins il peut être énormément riche en hémoglobine qui garantira les besoins en transport d'oxygène (**Marolla et al., 2008**).

Exemple : le traitement par les comprimés ZANITRA<sup>®</sup> 5mg.

## II) ZANITRA :

### 1) Présentation du médicament ZANITRA® 5mg :

ZANITRA® est un antianémique se présentant sous forme de comprimés lisses, aplatis, de couleur jaune, et non sécables conditionnés dans des boîtes de 60 unités de prise. ZANITRA® est le nom commercial de la vitamine B9 fabriqué par SAIDAL où l'acide folique est la substance active dosée à 5mg par comprimé. (Voir figure 2 et 3).



Figure 2 : Etui de ZANITRA® 5mg.



Figure 3 : Comprimé de ZANITRA® 5mg.

### 2) Composition :

Les compositions de comprimé ZANITRA® 5mg se présentent dans le tableau 3 :

**Tableau 3** : Le poids des matières premières pour un lot de 100kg et leurs différents rôles :

| Les matières premières | Poids (kg) | Fonctions                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Acide folique          | 5          | <b>*Principe actif :</b><br>Traitement des cas cités dans les indications thérapeutiques.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Phosphate bicalcique   | 68,4       | <b>*Diluant, bon agent de coulage et désintégrant :</b><br>-Il donne de la consistance aux comprimés.<br>-Il facilite l'écoulement de la poudre pendant la compression, donc il :<br>-Assure un poids unitaire précis.<br>-Il facilite le passage du comprimé au travers du système digestif.<br>-Il facilite la désagrégation du comprimé après administration par le patient.<br>-Il un complément alimentaire bénéfique pour la santé à lui seul. |
| Amidon de maïs         | 25,6       | <b>*Diluant, liant et désintégrant :</b> Il donne de la consistance. Il joue un double rôle dans la cohésion intermoléculaire, selon le milieu où il se trouve : il a tendance à être une colle pour un comprimé sec et un désintégrant pour un comprimé mouillé.                                                                                                                                                                                    |
| Stéarate de magnésium  | 1          | <b>*Lubrifiant,</b> qui améliore la compression (antifriction) et donne un bel aspect brillant et non poussiéreux aux comprimés.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

### 3) Principe actif (acide folique) :

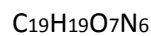
#### 3.1) Définition :

L'acide folique ou acide ptéroylglutamique. Vitamine du groupe B nécessaire à la fabrication de certains globules rouges et blancs. On le trouve dans le foie, les reins, les légumes secs, la levure, le blé, les légumes verts... Il participe également après des réactions complexes à la synthèse d'une des bases azotées de l'ADN. Certains médicaments anticancéreux sont des antifolates. (Voir figure 4).



Figure 4 : Acide folique.

#### 3.2) La structure chimique :



C'est l'acide (2S)-2-[[[4-[[[2-amino-4-hydroxyptéridin-6-yl] méthyl] amino]phényl] carbonyl]-amino]pentane dioïque.



Figure 5 : Structure chimique de l'acide folique.

### 3.3) Caractère :

- Aspect : poudre cristalline jaunâtre ou orangée.
- Solubilité : pratiquement insoluble dans l'eau et dans la majorité des solvants organiques.

L'acide folique se dissout dans les acides dilués et dans les solutions alcalines.  
**(Pharmacopée européenne, 2010).**

### 3.4) Propriétés pharmacocinétiques :

- **Absorption** : L'acide folique est brièvement absorbé à l'intestin grêle (5 à 20 minutes), le pic sérique est observé 1 à 2 heures après l'absorption **(McDowell, 2008).**
- **Distribution** : Il diffuse dans tous les tissus de l'organisme, il en existe dans le sérum sanguin, dans le liquide allantoïque et dans le lait, et est stocké principalement dans le foie **(McDowell, 2008).**
- **Elimination** : Elle est urinaire et fécale **(Vidal, 2012).**

### 3.5) Propriétés pharmacodynamiques :

Il a beaucoup de bénéfice pour la santé, Un apport suffisant en vitamine B9, présent sous forme de folate (dans les aliments), et d'acide folique (dans les compléments), est essentiel car au titre de coenzyme, il favorise l'organisme à :

- Utiliser les acides aminés, les unités de base de protéines ;
- Générer les acides nucléiques (ADN), qui constituent le matériel génétique de l'organisme ;
- Former les globules rouges dans la moelle osseuse ;
- Garantir une croissance rapide des cellules durant la petite enfance, l'adolescence et la grossesse ;
- Réguler (avec la vitamine B6 et B12) la concentration sanguine d'homocystéine, un acide aminé lié à certaines maladies chroniques telles que les maladies cardiaques **(Pharmacopée européenne, 2010).**

### 3.6) Posologie et mode d'administration :

Les posologies journalières sont comprises entre 5 et 15 mg, soit 1 à 3 comprimé(s) par jour. **(Vidal, 2012).**

### 3.7) Indications et contre indications :

- ❖ **En prévision d'une grossesse** (au moins 2 mois avant la conception, un supplément de 400mg est administré en prévention d'une carence aux conséquences graves aux fœtus) **(Daine, 2016).**
- ❖ **Correction de la carence en vitamine B9. C'est le cas d'une anémie macrocytaire.**  
**Mais qu'est-ce que l'anémie macrocytaire, également appelée anémie mégaloblastique (maladie de BIERMER) ?**

Il s'agit d'une baisse d'hémoglobine à cause d'une augmentation anormale du volume globulaire **(Aveline et al., 2000)**. Il existe une anomalie de la synthèse de l'ADN, souvent déclenché par une carence en vitamine B12 ou en acide folique **(Mehta et Hoffbrand, 2003)**. Le traitement consiste à administrer 5 mg d'acide folique par jour pendant 4 mois, puis à juger s'il y a lieu de continuer l'administration d'acide folique.

**Selon l'Encyclopédie médicale VULGARIS en ligne, cette anémie est un syndrome de :**

- ✓ **Malabsorption** (mauvaise absorption intestinale des vitamines B9 ou B12).  
(On a montré que la carence en B12 entraînait une déficience fonctionnelle en folacine, même lorsque la consommation et l'absorption en folacine sont normales).
  - ✓ **L'absence de facteur intrinsèque** (le facteur intrinsèque désigne une glycoprotéine qui se lie à l'intestin avec la vitamine B9 ou B12, et permet ainsi leurs absorptions au niveau de l'iléus).
  - ✓ **Des grossesses répétées.**
  - ✓ **La malnutrition.**
  - ✓ **L'éthylisme.**
- 
- ❖ **Maintien des facultés intellectuelles chez les personnes âgées :** mémoire, concentration, prévention contre l'Alzheimer ou les démences.
  - ❖ **Prévention cardiovasculaire :** une supplémentation en vitamine B9 et B12 (parfois aussi en vitamine B6) à long terme (par exemple 7 ans) réduit le risque d'accident vasculaire cérébral (AVC) de 12%.
  - ❖ **Prévention de cancers :** notamment du côlon, du poumon, du pancréas, de l'estomac et du sein. Sachant que les chercheurs pensent que la vitamine B9, à dose nutritionnelle, prévient de la formation des cellules anormales chez les individus sains. Par contre, lors d'une supplémentation, elle semble favoriser la prolifération des cellules cancéreuses lorsque les premières cellules anormales sont déjà présentes.
- 
- **Contres indications :**
    - Allergie à l'un des constituants. **(Vidal, 2012)**.

### **3.8) Effets indésirables :**

Très rares, cas de réactions allergiques cutanées. **(Dictionnaire SAIDAL, 2005)**.

### **3.9) Surdosage :**

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



#### 4) Présentation des excipients :

##### 4.1) L'amidon de maïs :

- **Caractères :**

- **Aspect :** Poudre d'un blanc mat à faiblement jaunâtre, très fine, qui crisse sous la pression des doigts. (Voir figure 6).
- **Solubilité :** Quasiment insoluble dans l'eau froide et dans l'éthanol à 96%. La présence de grains possédant des fentes ou des irrégularités sur leur bord est exceptionnelle.



**Figure 6 :** Amidon de maïs.

##### 4.2) Phosphate bicalcique :

- **Caractères :**

- **Aspect :** Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche.
- **Solubilité :** Quasiment insoluble dans l'eau et dans l'éthanol à 96%. La substance à examiner se dissout dans l'acide chlorhydrique dilué et l'acide nitrique dilué. (**Pharmacopée européenne, 2009**).

##### 4.3) Stéarate de magnésium :

- **Caractères :**

- **Aspect :** Poudre blanche, très fine, légère, onctueuse au toucher.
- **Solubilité :** Quasiment insoluble dans l'eau et dans l'éthanol anhydre. (**Pharmacopée européenne, 2010**).

### **III) Contrôle de qualité :**

#### **1) Définition de qualité :**

La qualité est définie comme étant l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confèrent la capacité à satisfaire des besoins exprimés et implicites.

**(Raiffaud, 2001).**

La qualité était jadis contrôlée, elle est de nos jours conçue et assurée en même temps que le produit lui-même. **(Bonnefoy et al., 2002).**

#### **2) Contrôle de qualité :**

Ensemble des contrôles réalisés tout le long de la chaîne de fabrication d'un médicament. Il est sous la responsabilité de pharmacien responsable du laboratoire fabricant **(Pebret, 2005)**. Les objectifs du contrôle de la qualité (CQ) sont de garantir à ce que les propriétés des matières premières et des produits finaux répondent en tout temps à des normes préalablement définies. **(Hulse, 2008).**

Le contrôle de qualité est une des étapes de l'assurance de qualité. **(Gentilini et al., 2012).**

#### **3) Assurance de qualité :**

Elle représente l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les préparations sont de la qualité voulue pour l'usage auquel elles sont destinées. Elle est acquise par la mise en œuvre d'un ensemble adapté à des activités préétablies et systématiques, destinées à donner confiance en l'obtention de la qualité requise. **(Fonteneau et Klusiewicz, 2008).**

Le but de l'assurance de qualité des produits pharmaceutiques est à la fois de garantir immédiatement la qualité des médicaments et de garantir la qualité de toutes les activités et prestations pharmaceutiques professionnelles qui influent sur la qualité des médicaments. **(Alexandre, 2014).** Elle regroupe :

##### **3.1) Bonnes Pratiques de Fabrication :**

Elle se présente sous la forme d'un guide comprenant neuf chapitres indiquant les différents moyens à mettre en œuvre pour garantir la qualité des produits mis sur le marché. **(Branger et al., 2007).**

Il concerne les spécifications et le contrôle, l'échantillonnage, ainsi que les procédures d'organisation, de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées sont tangiblement effectuées et que les matières premières, les articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, pour la vente ou l'approvisionnement, sans que leur qualité n'ait été jugée acceptable.

### **3.2) Bonnes Pratiques Cliniques (B.P.C) :**

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

## **4) Niveaux de contrôle :**

### **4.1) Contrôle physico-chimique :**

Parmi les propriétés physico-chimiques, la connaissance de la solubilité dans l'eau, dans des milieux aux degrés d'acidité (pH) variés, qui miment les conditions retrouvées dans l'estomac et dans l'intestin, est indispensable. La résistance aux changements de température d'humidité. **(Dessaigue, 2004).**

### **4.2) Contrôle microbiologique :**

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

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

### **4.3) Contrôle toxicologique :**

La toxicologie (poison) est l'étude de l'identification et des effets sur l'organisme des poisons. Etant donné que tous les médicaments à une certaine dose peuvent être des poisons, la toxicologie se rapporte aussi à l'étude de la toxicité des médicaments. **(Léonard et Ben Amar, 2002).**

## PARTIE PRATIQUE

Notre travail a été effectué au sein de l'unité BIOTIC de SAIDAL (Gué de Constantine-ALGER) durant une période de deux mois et dont l'objectif :

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

### I) Matériels et méthodes de contrôle :

#### 1) Matériel d'étude :

Les matières premières : le principe actif (l'acide folique), et l'excipient (amidon de maïs).

Le produit fini : ZANITRA® 5mg.

5 souris albinos femelle de race suisse ayant un poids entre 17-24g pour chaque souris, dont l'origine est l'élevage usine SAIDAL Gué de Constantine dans les conditions de température est de 24°C, avec une alimentation constituée de granulés de provenance de production locale à Bouzerreah et eau de ville.

Matériels non biologique

Appareils, réactifs et verrerie (voir l'annexe 1).

#### 2) Méthodes :

##### 2.1) Echantillonnages :

L'échantillonnage est une étape primordiale qui conditionne la représentativité des résultats.

##### ❖ Les matières premières :

Les milieux de stockage des matières premières doivent être conçues et adaptées dans l'intention d'assurer de bonnes conditions de stockage. Notamment, elles doivent être propres et sèches.

Le prélèvement est effectué grâce à une cuillère stérile à partir de sacs en plastiques propres comportant 100g de matière, et étiquetés avec la notion de la date, le nom de la matière ainsi que le numéro du lot et le nom du fournisseur.

##### ❖ Le produit fini :

Pour les contrôles physico-chimique et toxicologique, le prélèvement du produit fini est réalisé dès la fin de la production (après conditionnement), les boîtes sont prises inconsidérément à partir du magasin de stockage.

Les comprimés sont échantillonnés dans des flacons en verre marron foncé, sur lesquels on colle des étiquettes précisant la date de l'essai, le numéro du lot, le nom du produit fini, son dosage et le nom du fournisseur.

Pour le contrôle microbiologique, les comprimés conditionnés sont prélevés au début, au milieu, et à la fin de la production d'un lot.

## **2.2) Contrôle physico-chimique des matières premières et du produit fini :**

Le protocole suivi et les techniques utilisées pour le contrôle physico-chimique sont ceux proposés par la **Pharmacopée Européenne (2008)**.

### **2.2.1) Matières premières :**

#### **2.2.1.1) Principe actif (Acide Folique) :**

##### **- Caractères :**

**a)** Aspect : Poudre cristalline jaunâtre ou orangée.

**b)** Solubilité dans l'eau, les solvants organiques, les acides dilués et les solutions alcalines :

La solubilité est la quantité maximale d'une substance qui peut être dissoute dans un volume donné de solvant (**Ayadin et Habib, 2013**).

##### **Mode opératoire :**

-On introduit séparément 50mg d'acide folique (AF) dans quatre tubes à essai :

-On ajoute 10ml : d'eau dans le premier tube, d'alcool 96% dans le deuxième, d'HCl dilué (1/10) dans le troisième, et d'une solution de NaOH 0,1N dans le dernier. Ensuite on remue chacun des quatre tubes.

La lecture est effectuée par un simple examen visuel.

##### **- Tests d'identification :**

##### **a) Détermination du pouvoir rotatoire :**

Une molécule ayant un ou plusieurs carbones asymétriques peut présenter une activité optique c'est-à-dire faire pivoter la lumière polarisée. Pour constater cette déviation de la lumière polarisée, on utilise un polarimètre qui donne une mesure de l'angle de déviation de la lumière polarisée. Ensuite, on calcule le pouvoir rotatoire ( $[\alpha]_D$ ) par rapport à la concentration en substrat dans la cellule (**Rabasso, 2006**).

##### **Mode opératoire :**

On dissout 0,5g d'acide folique (AF) dans de l'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1M et on complète à 50ml avec le même solvant.

Après agitation, la solution obtenue est mise dans la cellule du polarimètre.

Un essai à blanc doit être préalablement effectué avec l'hydroxyde de sodium.

Le pouvoir rotatoire est ensuite déterminé par la formule suivante :

$$\text{Pouvoir rotatoire} = [\alpha] = \frac{\alpha \times V \times 100}{Pe \times (100 - Te)}$$

**[ $\alpha$ ]** : la déviation de la lumière à laquelle l'acide folique commence à se dégrader.

**$\alpha$**  : Angle de rotation en degrés.

**V** : Le volume de solvant (50ml).

**Pe** : La masse de la prise d'essai de l'acide folique (proche le plus possible de 0.5g).

**100** : les 100% de l'acide folique.

**Te** : Le pourcentage d'eau éliminée des 100 % de la prise d'essai témoin de l'acide folique.

**Limite : +18 à +22**

#### **b) La teneur en eau :**

La détermination de la teneur en eau (Te) se fait par un appareil appelé « Karl Fischer » dont lequel on introduit 0,15g d'acide folique (AF).

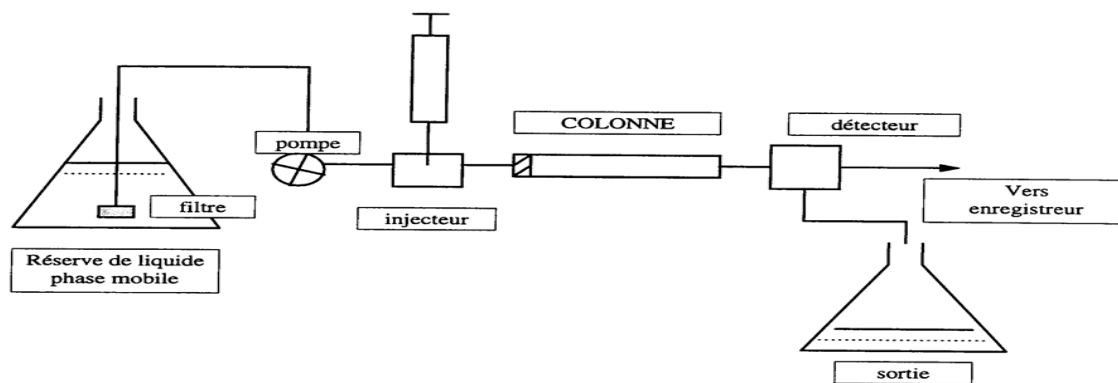
**Limite : 5% à 8,5%**

#### **c) Dosage par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :**

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est une technique analytique clé, utilisée dans de nombreux secteurs d'activités, pour l'analyse de matrices agroalimentaires, environnementales et pharmaceutiques (**Guillarme, 2014**).

La chromatographie liquide haute performance s'en distingue par l'utilisation de colonnes de petit diamètre, remplies d'un matériau constitué de particules très fines. De plus, une pompe assure l'introduction de la phase mobile dans la colonne sous une pression extrêmement élevée. La détection se fait grâce des systèmes optiques, par une absorption de lumière ultra violette (spectrophotomètre UV) (**Courtot et Jaussaud, 1990**).

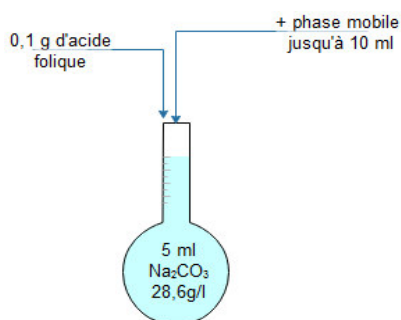
Les variations de tension produites à la sortie du détecteur sont enregistrées sous la forme d'un chromatogramme (**Courtot et Jaussaud, 1990**).



**Figure 7 :** Schéma de principe d'une chaîne d'HPLC.

#### Préparation de la solution à examiner :

On dissout 0,1g d'acide folique dans 5ml d'une solution de carbonate de sodium R à 28,6g/L et on complète à 10ml avec la phase mobile.

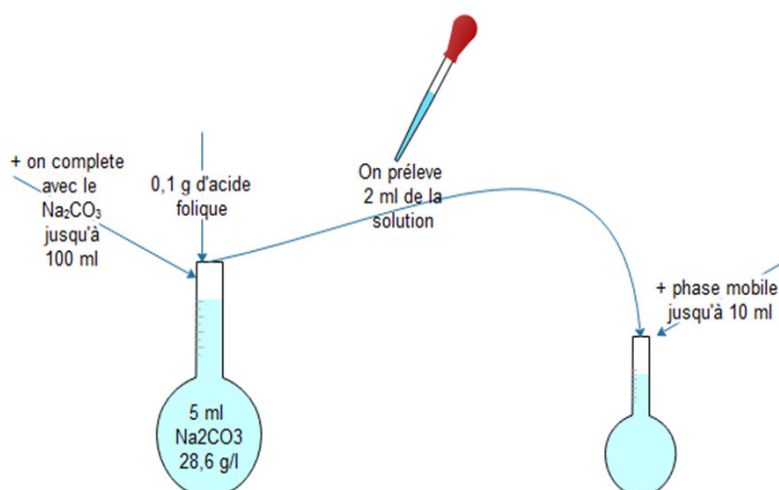


**Figure 8 :** Schéma de préparation de la solution examinée pour le dosage par HPLC.

#### Préparation de la solution témoin :

##### ➤ Solution témoin « a » :

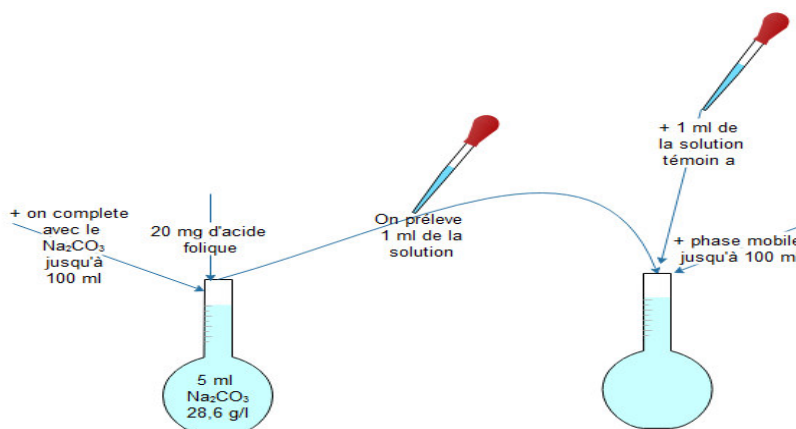
On dissout 0,1g d'acide folique SCR dans 5ml d'une solution de Carbonate de Sodium à 28,6g/l et on complète à 100ml avec la phase mobile. On prélève 2ml de cette solution et on complète à 10ml avec la phase mobile.



**Figure 9 :** Schéma de la préparation de la solution témoin « a » pour le dosage par HPLC.

➤ **Solution témoin « b » :**

A 20mg d'acide folique SCR, on ajoute 5ml d'une solution de carbonate de sodium R à 28,6g/L, on complète à 100ml avec la même solution et on mélange jusqu'à dissolution complète. On mélange 1ml de cette solution et 1ml de solution témoin « a », et on complète à 100ml avec la phase mobile.



**Figure 10 :** Schéma de la préparation de la solution témoin « b » pour le dosage par HPLC.

**Préparation de la phase mobile :**

On mélange 24ml de méthanol 96 %  $\text{CH}_3\text{OH}$  176ml d'une solution contenant 11.16g/L de phosphate mono-potassique  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  et 5,50g/L de phosphate di-potassique  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ .

**La phase stationnaire :**

Gel de silice octylsilylé pour chromatographie R ( $5\mu\text{m}$ ) à particules sphériques présentant une surface spécifique de  $350\text{m}^2/\text{g}$ , un diamètre de pores de 10nm et un taux de carbone de 12,5%.



**Conditions chromatographiques :**

- Colonne : Discovery C8 (250x4) mm.
- Débit : 0,6ml/min.
- Volume à injecter : 5µl de solution à examiner et des solutions témoins « **b** ».
- Longueur d'onde de détection : 280nm.

**Enregistrement :**

- Temps de rétention limite de l'acide folique est aux environs de 8,5 minutes.
- Le pic le plus haut et le plus large représente le pic de rétention de l'acide folique.
- Le temps de rétention du principe actif dans les solutions témoins et essais doit comporter le même chiffre avant la virgule, pour un résultat conforme. Par exemple : 5,66min et 5,33min.

**Dosage :**

- **L'injection** : Solution à examiner et solution témoin.
- **La conservation** : A l'abri de la lumière.

**2.2.1.2) Excipient (amidon de maïs) :**

Il est extrait du caryopse de Zea de Maïs L. (Voir figure 11).



**Figure 11** : Caryopse de Zea de Maïs L.

**- Caractères :**

- a)** Aspect : Poudre d'un blanc mat à faiblement jaunâtre, très fine, qui crisse sous la pression des doigts.
- b)** Solubilité dans l'eau froide et l'éthanol à 96% :
  - ✓ Dans un tube à essai, on ajoute 50mg d'amidon de maïs, 10ml d'eau froide.

- ✓ Dans un autre tube à essai, on procède de la même façon, en remplaçant l'eau froide par l'éthanol à 96%.

#### **- Test d'identification (Réaction de coloration par l'iode) :**

- On chauffe à ébullition une suspension de 1g d'amidon de maïs dans 50ml d'eau pendant 1min.
- Après refroidissement, il se forme un empois trouble et liquide.
- A 1ml de l'empois formé, on ajoute 0,05ml de solution d'iode, et on effectue la lecture par simple observation visuelle.

#### **- Essais :**

##### **a) Détermination du pH :**

On agite 5g d'amidon de maïs avec 25ml d'eau exempté de dioxyde de carbone pendant 1 minute et on laisse reposer pendant 15 minutes.

Par la suite, on plonge l'électrode du pH-mètre dans un bécher contenant 20ml de la solution obtenue précédemment, et la lecture se fait directement sur l'écran d'affichage.

**Limite : 4 à 7 avec T=22,8°C**

##### **b) Fer :**

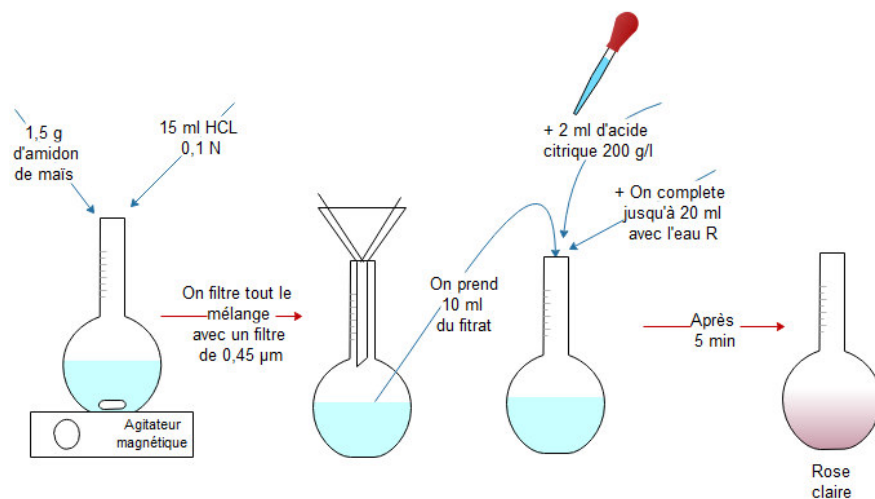
On dissout 1,5g d'amidon de maïs dans l'acide chlorhydrique dilué (1/10) et on complète à 15ml avec le même solvant.

Après agitation et filtration de notre préparation, on ajoute 2ml d'une solution d'acide citrique à 200g/L et on mélange, puis on complète à 20ml avec de l'eau distillée.

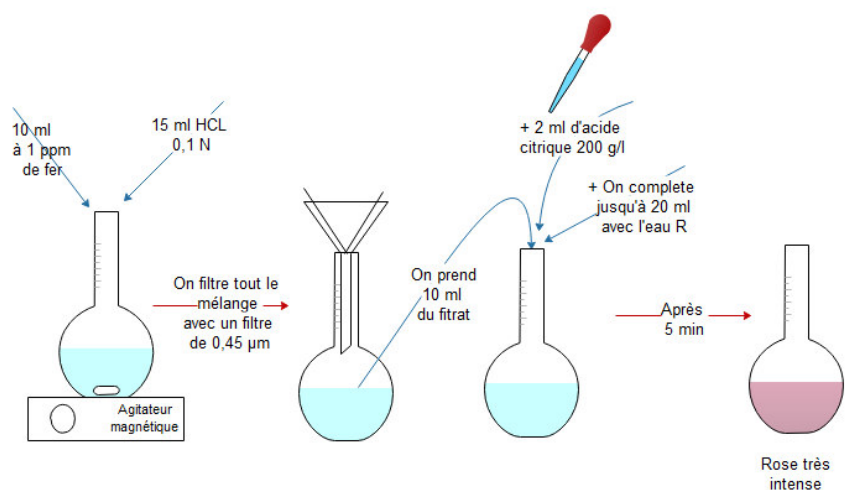
Le témoin est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la prise d'essai d'amidon de maïs par 10ml d'une solution à 1ppm (partie par million) de fer.

La lecture se fait par examen visuel après 5 minutes.

**Limite :  $\leq 10$  ppm**



**Figure 12 :** Schéma de la préparation de la solution pour le fer.



**Figure 13 :** Schéma de la préparation de la solution témoin pour le fer.

### c) Substances oxydantes :

Dans une fiole conique de 125ml à bouchon de verre, on introduit 4g de substance à examiner et on ajoute 50ml d'eau R.

On bouche et on agite par un mouvement rotatoire pendant 5 min à l'aide d'un agitateur magnétique.

On fait passer la solution à travers un filtre dans une autre fiole de 50ml.

On transvase 30ml du surnageant limpide dans une fiole conique de 125 ml à bouchon de verre.

On ajoute 1ml d'acide acétique glacial R et 0,5 à 1g d'iodure de potassium (KI) R.

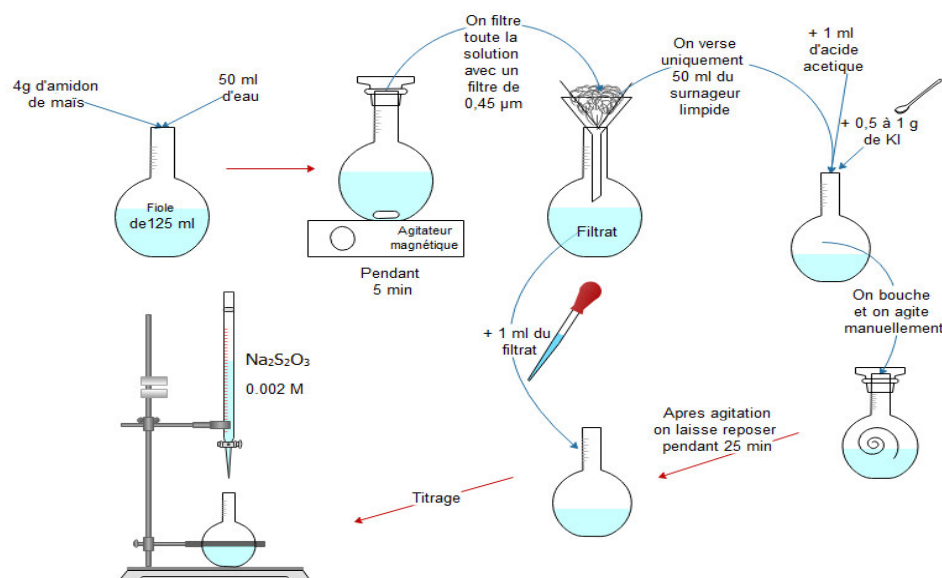
On bouche et on agite manuellement et on laisse reposer à l'obscurité pendant 25min à 30min.

On ajoute 1ml de solution d'amidon R (le filtrat obtenu), et on titre avec le thiosulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  à 0.002M jusqu'à disparition de la coloration brune de l'iode.

On effectue un essai à blanc, le virage de l'indicateur ne nécessite pas plus de 1,4ml de thiosulfate de sodium 0.002M pour la solution essai.

1ml de thiosulfate de sodium correspond à 34 $\mu\text{g}$  de substances oxydantes.

**Limite :  $\leq 20$  ppm calculé en  $\text{H}_2\text{O}_2$**



**Figure 14 :** Schéma de la préparation de la teneur en substances oxydantes.

#### d) La perte à la dessiccation :

##### Mode opératoire :

Procédez à la pesée de flacon vide préalablement desséchée à l'étuve. Pesez 1g d'amidon de maïs dans le flacon taré et par la suite placez l'ensemble dans une étuve à 130°C pendant 90min.

Après refroidissement pendant 15 minutes dans un dessiccateur, pesez le flacon.

Le pourcentage de la perte à la dessiccation est calculé par la formule suivante :

$$\text{la perte à la dessiccation} = P(\%) = \frac{(P_v + P_e) - P_f}{P_e} \times 100$$

**P(%)** : Pourcentage de la perte à la dessiccation.

**Pv** : Poids vide du flacon.

**Pe** : Prise d'essai.

**Pf** : Poids final du flacon.

**Limite : ≤ 15%**

#### **e) Taux de cendres sulfuriques (CS) :**

##### **Mode opératoire : (Déterminé sur 1g d'amidon de maïs)**

Chauffez un creuset approprié (de silice) à 600±50°C pendant 30min. Laissez refroidir dans un dessiccateur sur du gel de silice ou autre desséchant approprié puis pesez. Dans le creuset, introduisez la prise d'essai puis pesez. Humectez la substance à examiner avec un peu d'acide sulfurique (généralement 1ml) et chauffez doucement, à une température aussi faible que possible, jusqu'à carbonisation complète de l'échantillon. Après refroidissement, humectez le résidu avec un peu d'acide sulfurique (généralement 1ml). Chauffez doucement jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches, puis calcinez à 600±50°C jusqu'à incinération complète du résidu. Veillez à ce qu'il y ait aucune émission de flammes lors du procédé. Laissez refroidir le creuset dans un dessiccateur sur du gel de silice ou autre desséchant approprié, puis pesez à nouveau et calculez le pourcentage de résidu.

Le taux des cendres sulfuriques est obtenu par l'application de la formule suivante :

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

**CS** : Pourcentage des cendres sulfuriques.

**Pv** : Poids vide (g).

**Pe** : Prise d'essai (g).

**Pf** : Poids final (g).

**Limite : ≤ 0,6%**

#### **2.2.2) Le produit fini :**

##### **2.2.2.1) Caractères organoleptiques :**

- **Aspect** : Comprimés jaunes, ronds, aux bords chanfreinés, lisses et brillant.

##### **2.2.2.2) Identification (spectrophotométrie) :**



**Figure 15 :** Spectrophotomètre UV 1800 Shimadzu.

**Mode opératoire :**

On dissout une prise d'essai, exactement pesée, de poudre de comprimés voisine de 200mg dans une fiole de 100ml avec une solution aqueuse de NaOH 0,1N, et on complète le volume au trait de jauge.

Après filtration, on effectue une dilution au 1/10 à l'aide de NaOH 0,1N.

Avec un spectrophotomètre, on procède à la lecture de la densité optique de la solution préparée aux deux longueurs d'ondes 256nm et 365nm. Ensuite on calcule le rapport :  $A_{256}/A_{365}$ .

Avec :

$A_{256}$  : Absorbance à 256nm.

$A_{365}$  : Absorbance à 365nm.

**Limite : 2.8 à 3**

**2.2.2.3) Essais limites :**

**a) Le poids moyen :**

A l'aide d'une balance précise, on effectue la pesée sur 10 comprimés, on pèse chacun tout seul, tour à tour ensuite on calcule le poids moyen.

$$P_m = \sum_{i=1}^{10} \frac{P_i}{10}$$

$P_m$  : Poids moyen.

$P_i$  : Poids de chaque comprimé.

**Limite : 92,5mg à 107,5mg**

**b) Uniformité de masse :**

Ce test est destiné à déterminer la masse unitaire des comprimés.

A l'aide d'une balance précise, on pèse individuellement 20 comprimés, puis on compare la masse de chaque comprimé pesé avec la masse moyenne trouvée précédemment.

**Limite : La masse individuelle de 2/20 comprimés au plus peuvent s'écarter du poids moyen de 7,5%, mais la masse d'aucun comprimé ne peut s'écarter de plus de 15%.**

**c) Friabilité :**

Le friabilimètre permet de mettre en évidence les phénomènes par lesquels la surface des comprimés peut être endommagée ou présenter des signes d'abrasion ou de rupture sous l'effet de choc mécanique ou d'une attrition.

L'appareil utilisé est constitué d'un tambour rotatif transparent. L'une des faces du tambour est amovible. A chaque rotation, les comprimés roulent ou glissent et tombent d'une hauteur d'environ 130mm sur la paroi du tambour ou les uns sur les autres où ils vont subir des frottements et des chutes pendant un temps déterminé. On prélève un nombre de comprimés entiers correspondant d'aussi presque possible à une masse de 6.5g selon l'instruction référencée, ces derniers sont pesés au début et à la fin de rotation qui dure 4 minutes, et on calcule par la relation suivante :

$$F = \left[ \frac{P_i - P_f}{P_i} \right] \times 100$$

**F** : Friabilité.

**P<sub>i</sub>** : Poids des comprimés avant le test.

**P<sub>f</sub>** : Poids des comprimés après le test.

**Limite : ≤ 1%**

**d) Désagréation des comprimés (temps de délitement) :**

Cet essai est destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des comprimés à se désagréger, en milieu liquide, dans le temps prescrit. Le test est réalisé par un désintégrateur.

Le test est effectué à 37°C, sur 6 comprimés en milieu aqueux. Les comprimés sont soumis à un mouvement d'agitation régulier.

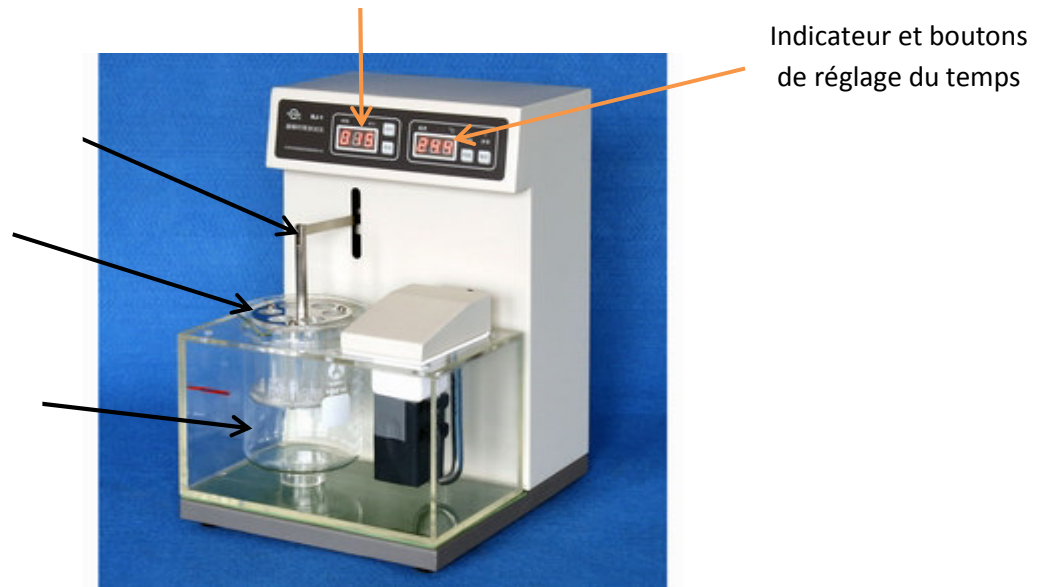
**Mode opératoire :**

Dans chacun des 6 tubes, introduire un comprimé, puis un disque si nécessaire. Placer l'assemblage dans le vase cylindrique rempli avec de l'eau distillée. La température du milieu aqueux doit être maintenue à 37°C.

Faire fonctionner l'appareil. Les comprimés sont donc soumis à un mouvement d'agitation régulier jusqu'à désagréation complète, et on note le temps de désagréation.

**Limite :  $\leq 15\text{min}$**

L'appareil utilisé est presque similaire (en globalité) à celui représenté dans la figure ci-dessous :



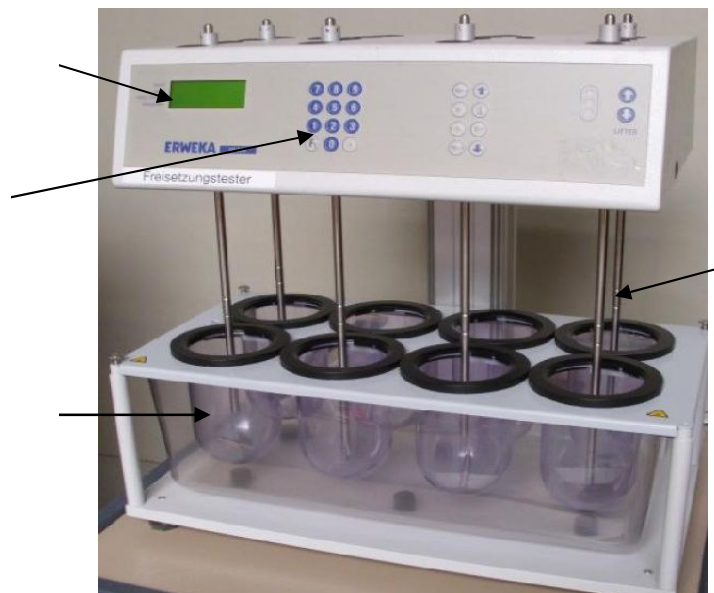
**Figure 16 : Délimètre (appareil de désagrégation).**

**e) Test de dissolution :**

Le test de dissolution appliqué au comprimé permet de s'assurer, qu'une fois administrés, ces derniers libèreront la substance active qu'ils contiennent pour le mettre à la disposition de l'organisme, et ceci dans les limites de concentration et de vitesse déterminées afin de garantir l'effet thérapeutique désiré.

L'appareil utilisé est représenté ci-dessous :





**Figure 17 :** Dissolu-test ERWEKA Dt-600.

❖ **Conditions opératoires :**

- Composition du milieu : Tampon phosphate  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 7,5 (0,2M).
- Volume du milieu : 900ml.
- Type d'agitation : Palette.
- Vitesse d'agitation : 75trs/min.
- Température :  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .
- Méthode de dosage : Spectrophotométrie UV/Visible.
- Longueur d'onde : 280nm.
- Temps de dissolution : 45min.

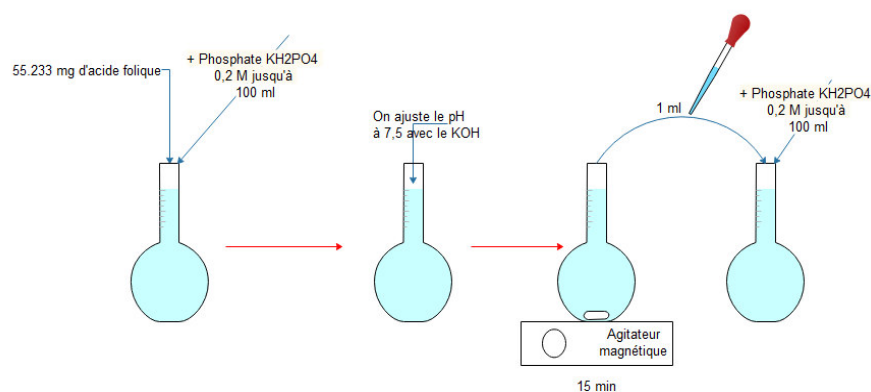
❖ **Réactifs :**

- Eau distillée.
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
- KOH.

❖ **Solution étalon :**

Peser 55.56mg d'acide folique dans une fiole de 100ml et le dilué au volume avec le milieu tampon phosphate pH 7,5 (à 0,2M), on ajuste le pH à 7,5 en rajoutant le KOH, bien mélanger pendant 15 min.

Prélever 1ml de la solution précédente puis compléter le volume à 100ml avec le même milieu tampon phosphate. (La solution étalon obtenue est de 0,005556mg/ml).



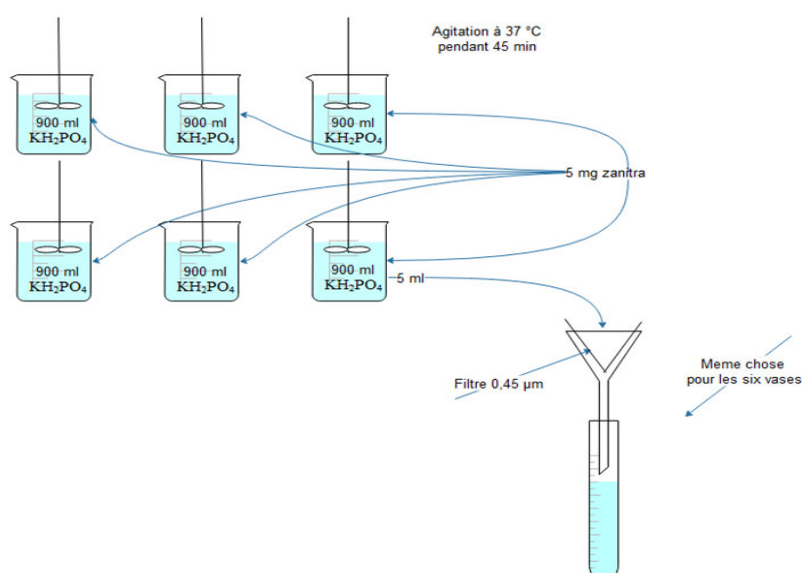
**Figure 18 :** Schéma de la préparation de la solution étalon pour le test de dissolution.

❖ **Solution essai :**

Introduire un comprimé de ZANITRA® à 5mg dans chaque vase, remplis à 900ml de milieu de dissolution ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) et chauffé préalablement à  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  ; après 45 minutes d'agitation, prélever 5ml de la solution et filtrer à travers des filtres de  $0,45 \mu\text{m}$  pour verser dans les six tubes à essais.

Déterminer les absorbances de la solution étalon et de l'échantillon à une longueur d'onde égale à 280nm contre un blanc [milieu tampon phosphate pH 7,5 (à 0,2M)].

**Remarque importante :** Pour gagner du temps, on prépare la solution témoin comme indiqué précédemment mais en dissolvant une masse approximative de 277,8 mg d'acide folique dans une éprouvette en plastique de 6000 ml remplie jusqu'au trait de jauge avec le milieu tampon phosphate en ajustant le pH avec le KOH. Cela sert à préparer un volume suffisant de milieu de dissolution pour remplir tous les bacs du dissolu-test.



**Figure 19 :** Schéma de procédure de dissolution.

**Calculs :** La teneur en acide folique dissous est donnée par la relation :

$$Q \% = \frac{DO_{ESSAI}}{DO_{ETALON}} \times \frac{P_{et}}{100} \times \frac{1}{100} \times \frac{900}{D} \times \text{titre}$$

**DO<sub>ESSAI</sub>** : absorbance de la solution échantillon.

**DO<sub>ETALON</sub>** : absorbance de la solution étalon.

**P<sub>et</sub>** : Prise d'essai de la solution étalon (55.56g).

**Titre** : Titre standard (c'est l'acide folique pure de la prise d'essai de la solution témoin, il est déterminé par HPLC).

**D** : Dose théorique de chaque comprimé (5mg).

**Q** : Quantité spécifiée de substance active passée en solution.

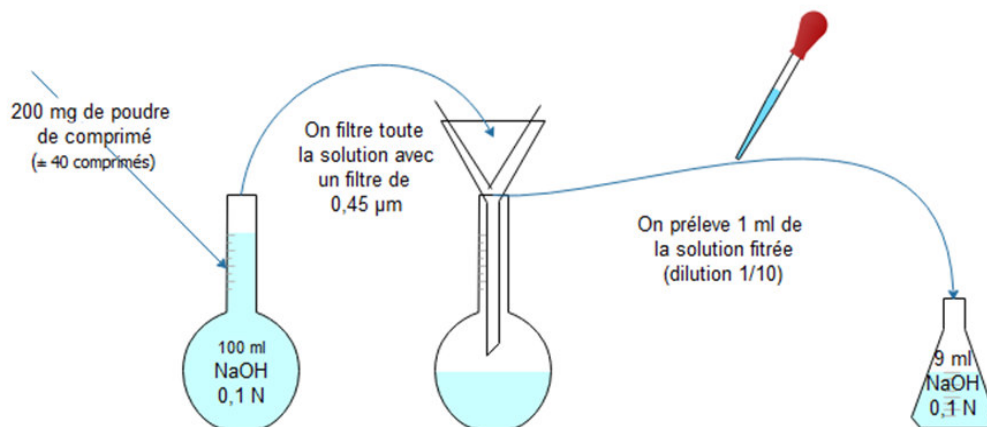
**Limite :  $\geq 75 \%$**

#### f) Dosage de l'acide folique :

##### ❖ Solution essai :

Dissoudre une prise d'essai, exactement pesée, de poudre de comprimés voisine de 200mg dans une fiole de 100ml avec une solution aqueuse de NaOH 0,1N et compléter le volume au trait de jauge. Filtrer ; Effectuer une dilution au 1/10ml à l'aide de NaOH 0,1N.

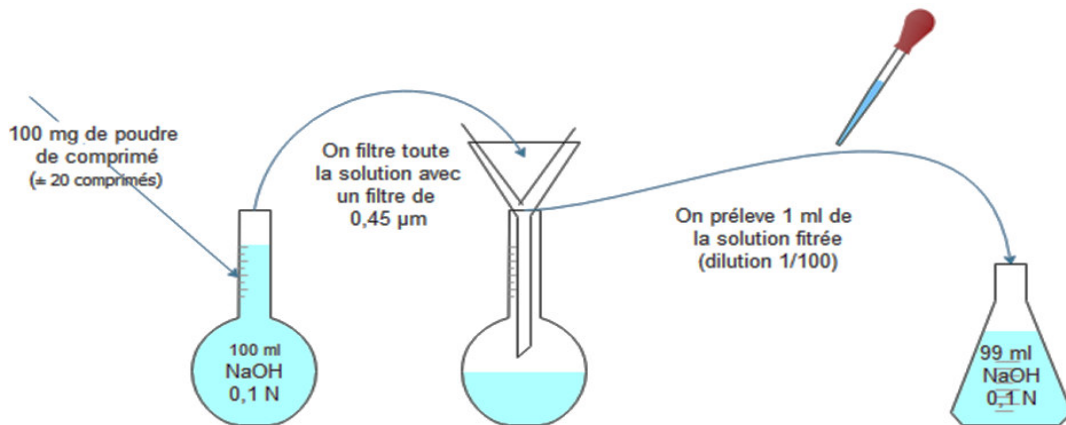
Lire au spectrophotomètre à 256nm en réglant le zéro de l'appareil avec NaOH 0,1N.



**Figure 20 :** Schéma de la préparation de la solution essai pour le dosage de l'acide folique.

❖ **Solution étalon :**

Sur une prise d'essai de 100mg de principe actif (acide folique), procéder de la même façon que la solution essai en faisant une dilution au 1/100.



**Figure 21 :** Schéma de la préparation de la solution étalon pour le dosage de l'acide folique.

**Calculs :** La teneur en acide folique est donnée par la relation :

$$Q = \frac{DO_{\text{essai}}}{DO_{\text{étalon}}} \times \frac{PE_{\text{étalon}}}{PE_{\text{essai}}} \times \frac{PM}{10} \times \frac{1}{100} \times \text{teneur} = \text{mg /cp}$$

**Q :** La teneur en acide folique (mg/cp).

**DO essai :** absorbance de solution échantillon.

**DO étalon :** absorbance de solution étalon.

**PE étalon :** prise d'essai de l'étalon (92.96 mg).

**PE essai :** prise d'essai de l'échantillon (200.5 mg).

**PM :** poids moyen (101.86 mg).

**Teneur :** c'est le pourcentage de l'acide folique anhydre (après lyophilisation) dans la prise d'essai de la solution étalon (99.69%).

**Théorie :** 5±10% (mg/cp)

**Limite :** 4,5 à 5,5 (mg/cp)

### 2.3) Contrôle microbiologique du produit fini :

Afin de faciliter le contrôle microbiologique, les pharmacopées ont préconisé des protocoles de travail pour les différents types de médicaments. Dans le cas de ZANITRA® 5mg, elles recommandent :

- Le dénombrement des germes aérobies viables totaux.
- La recherche des micro-organismes spécifiés (Entérobactéries, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et salmonelles).

#### 2.3.1) Dénombrement des germes viables totaux :

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

##### Préparation des dilutions :

###### ❖ Dilution $10^{-1}$ :

On pèse presque 100 comprimés de ZANITRA®, ce qui est équivalent à un poids de 10g, et on les dilue dans 90ml d'une solution tampon peptonée au chlorure de sodium à pH=7 contenant du tween. Ce qui correspond à la dilution  $10^{-1}$  (homogénéisât A). On effectue deux autres dilutions ( $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ).

###### ❖ Dilution $10^{-2}$ :

On prend 1ml à partir de l'homogénéisât A et on le met dans un tube contenant 9ml de la même solution tampon utilisée pour la dilution  $10^{-1}$ .

###### ❖ Dilution $10^{-3}$ :

On prend 1ml à partir de la dilution  $10^{-2}$  et la mettre dans un tube contenant 9ml de la même solution tampon utilisée pour les dilutions précédentes.

#### 2.3.1.1) Recherche des bactéries viables totales :

Cette méthode consiste à dénombrer les bactéries viables et revivifiables (c'est-à-dire aptes à se diviser) par une mise en culture d'un échantillon et de ses dilutions décimales sur un milieu solide en boîte de pétri. Le nombre de cellules viables cultivables est estimé par comptage de colonies formées pendant l'incubation par rapport au volume de l'échantillon testé (Gazengel et Orecchioni, 2013).

**Mode opératoire :** (On utilise 2 boîtes de pétri pour chaque dilution ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ )).

➤ **Ensemencement en profondeur : (Méthode 1)**

On introduit dans chaque boîte de pétri 1ml de la dilution concernée, puis on ajoute 20ml d'un milieu gélose liquéfié à base de peptones de caséine de Soja.

Par la suite, on incube à l'étuve à une température de 37°C pendant 5 jours (Voir figure 22).

➤ **Étalement en surface : (Méthode 2)**

Introduire dans chaque boîte de pétri 20ml d'un milieu gélose liquéfié aux peptones de caséine de Soja, puis laissez solidifier.

Par la suite, à l'aide d'une pipette pasteur, étaler à la surface du milieu un volume mesuré de 0,1ml de la dilution préparée de l'échantillon à contrôler.

Enfin, incuber à l'étuve à une température de 37°C pendant 5 jours.

**Lecture :**

Lors de la lecture, on procède d'abord à la sélection des boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300.

On fait par la suite, la moyenne arithmétique des dénombrements des deux boîtes de la dilution sélectionnée et on calcule le nombre d'UFC (Unité Formant Colonie) par gramme de produit selon la formule suivante :

$$N = m \times \left[ \frac{1}{v \times D} \right]$$

**N** : Nombre de colonies (UFC/g).

**m** : Nombre moyen de colonies.

**V** : Volumeensemencé (ml).

**D** : Dilution utilisée.

**2.3.1.2) Recherche des levures et moisissures :**

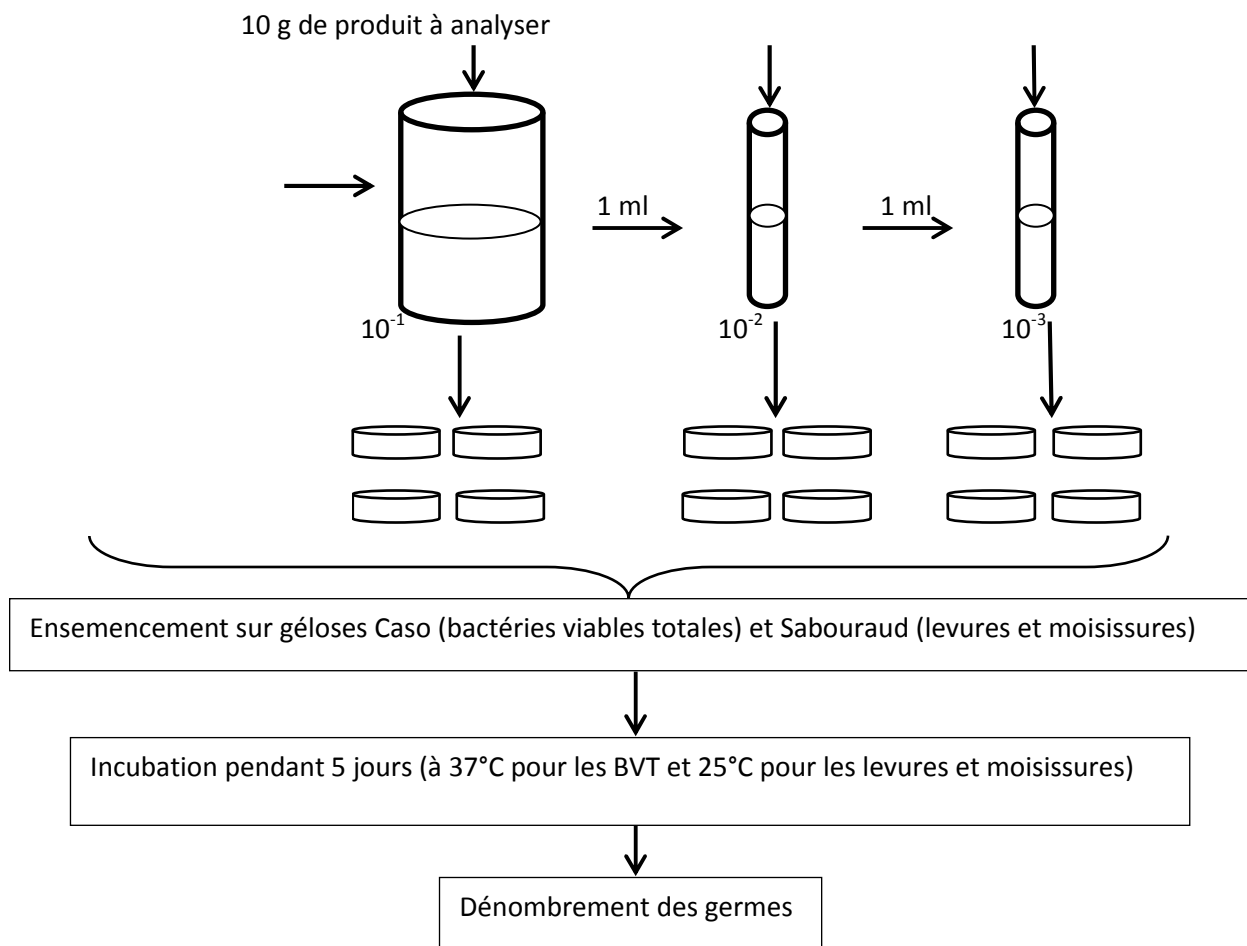
**Mode opératoire :**

Se fait de la même manière que les bactéries viables totales (BVT) sauf qu'on remplace le milieu gélose liquéfié à base de peptones de caséine de Soja par un milieu gélose liquéfié Sabouraud-glucosé comme l'indique la figure 22.

Par la suite, on incube à l'étuve à une température de 25°C pendant 5 jours.

**Lecture :**

Lors de la lecture, on procède d'abord à la sélection des boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 10 et 100, et le dénombrement se fait de la même façon que les bactéries viables totales.



**Figure 22 :** Dénombrement des bactéries viables totales et des levures et moisissures

## 2.3.2) La recherche des micro-organismes spécifiques :

### 2.3.2.1) Recherche des entérobactéries :

Les entérobactéries sont un ensemble d'espèces bactériennes ayant toutes une forme de bâtonnets (bacilles) et de couleur rouge à la coloration dite de gram (bacilles gram négatif). Se retrouvent toutes dans les matières fécales des animaux et des humains.

#### a) Pré-enrichissement :

On pèse 100 comprimés de ZANITRA® 5mg, ce qui est équivalent à un poids de 10g, on les dilue dans 90ml de bouillon lactose, et on homogénéise pour obtenir « l'homogénéisât B ».

On incube à 37°C pendant 4 heures pour revivification.

**b) Enrichissement :**

Après agitation, on prélève 1ml et on l'ajoute à 9ml du bouillon Mossel qui est le milieu d'enrichissement pour les entérobactéries (solution  $10^{-1}$ ).

On prend 1ml de solution  $10^{-1}$  et on l'ajoute à 9ml du bouillon Mossel (solution  $10^{-2}$ ).

De même manière, on prépare la dilution  $10^{-3}$  à partir de la solution  $10^{-2}$ .

On incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures (voir figure 23).

La présence d'un trouble au niveau des tubes, indique la présence des entérobactéries.

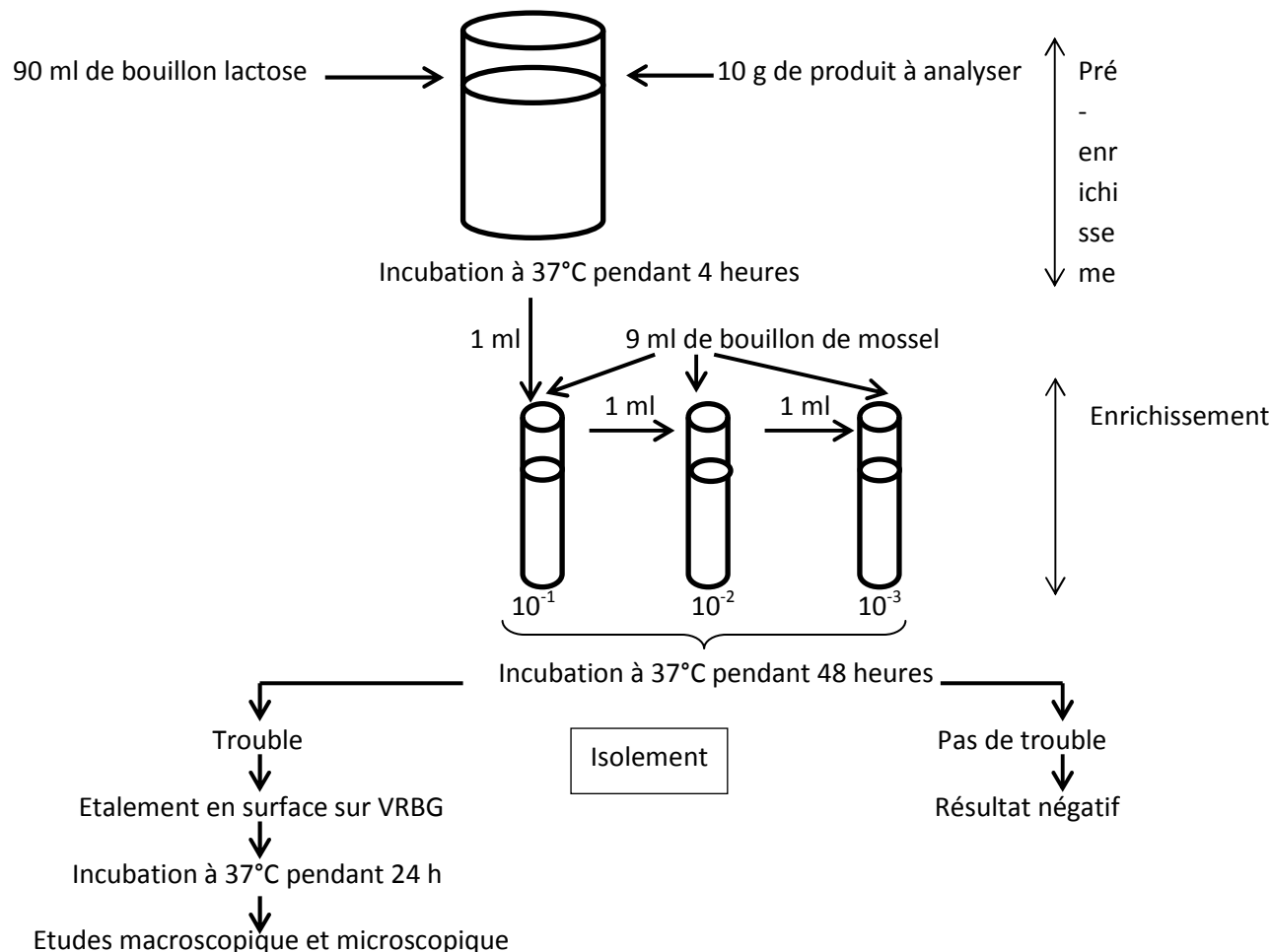
**c) Isolement :**

A partir des tubes positifs, on réalise un ensemencement par étalement sur la gélose VRBG et on incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures (figure 23).

**d) Lecture :**

« **Etude macroscopique** » : L'observation à l'œil nu permet de différencier les colonies obtenues. Un résultat positif se traduit par la croissance des colonies bien développées habituellement rouges ou rougeâtres.

« **Etude microscopique** » : Cette étude permet la détermination de la forme, la mobilité et le mode de regroupement des cellules bactériennes. Les entérobactéries apparaissent sous forme de bacilles mobiles.



**Figure 23 :** Différentes étapes de la recherche et d'identification des entérobactéries.



### 2.3.2.2) Recherche d'*Escherichia coli* :

*Escherichia coli* (Colibacille) est une bactérie à gram négatif de la famille des entérobactéries, en forme de bâtonnet et vivant normalement dans l'intestin, mais pouvant parfois provoquer diverses infections (génitales féminines, ou intestinales et urinaires). Cette bactérie est aussi utilisée dans l'expérimentation en biologie moléculaire.

**a) Pré-enrichissement :**

A partir de l'homogénéisât A, on prélève 10ml et on les ensemence dans 90ml du milieu liquide à base de peptones de caséine de Soja et on incube à 37°C pendant 24 heures.

**b) Enrichissement :**

Après incubation, on agite puis on prélève 1ml et on ensemence dans 9ml du milieu liquide Mac Conkey et on incube à 44°C pendant 24 heures.

**c) Isolement :**

A partir des tubes positifs (présentant un trouble), on fait un ensemencement par étalement sur une boîte pétri contenant gélose Mac Conkey et on incube à 37°C pendant 72 heures.

**d) Lecture :**

La croissance de colonies roses à rouges brique, non muqueuses de bactéries en bâtonnets gram négatifs indique la présence d'E. Coli qui est confirmé par des tests biochimiques appropriés (test de MacKenzie).

### 2.3.2.3) Recherche des *staphylococcus aureus* :

Bactéries à gram positifs. Ils se distinguent généralement des autres staphylocoques par la présence d'une coagulase. Ils sont fréquemment rencontrés chez l'homme. Ils peuvent être responsable d'infections cutanées (folliculites, impétigo, furoncles...), de la sphère ORL (sinusites, otites...), d'infections diverses et d'infection redoutables (septicémies, endocardites, pneumopathies...).

**a) Enrichissement :**

A partir de l'homogénéisât A, on prélève 10ml et on les ensemence dans 90ml de milieu liquide à base de peptones de caséine de Soja et on incube à 37°C pendant 24 heures.

**b) Isolement :**

On fait un ensemencement par étalement sur boîte de pétri contenant de la gélose Vojel-Johnson et on incube à 37°C pendant 72 heures.

**c) Lecture :**

La présence de *Staphylococcus aureus* est confirmée s'il apparaît sur le milieu Vojel-Johnson des colonies petites, noires avec un halo jaune.

#### 2.3.2.4) Recherche des *salmonelles* :

La *salmonelle* est un type de bactéries intervenant dans divers types d'intoxication alimentaires, mais qui peuvent aussi être la cause de la fièvre typhoïde et paratyphoïde.

**a) Pré-enrichissement :**

On introduit 10g de l'échantillon à analyser dans 90ml de bouillon à base de peptones de caséine de Soja, après avoir homogénéisé le mélange soigneusement, on incube à 37°C pendant 24 heures.

**b) Enrichissement :**

On agite le récipient puis on ensemence 1ml de la culture précédente dans 9ml de bouillon au Tétrathionate-bile-vert-brillant (TBG).

On incube par la suite à 44°C pendant 24 heures.

**c) Isolement :**

Au cas où il y a des tubes positifs (présentant un trouble), on ensemence par étalement quelques gouttes de la culture précédente dans deux boîtes de pétri, la première contenant le milieu gélose Xylose-lysine-désoxycholate (XLD) et la seconde le milieu gélose vert brillant-rouge de phénol-lactose-saccharose (PBLS).

On incube par la suite à 37°C pendant 72 heures.

**d) Lecture :**

Sur milieu Xylose-lysine-désoxycholate : Colonies bien développées rouges ou rougeâtres avec ou sans centre noir.

Sur milieu PBLS : Petites colonies transparentes, incolores ou d'une coloration allant du rose au blanc opaque, souvent entourées d'une zone rose à rouge indiquent la présence de *Salmonelles*.

#### 2.3.3) Limites d'acceptation :

Les limites d'acceptation prescrites dans la Pharmacopée Européenne 2011, 7<sup>ème</sup> édition sont données dans le tableau suivant :

**Tableau 4 :** Les limites d'acceptation :

| TEST                                                                                             | NORMES  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Dénombrement des germes aérobies viables totaux <b>DGAT</b> (UFC/g)                              | 2000    |
| Dénombrement des moisissures et levures totaux <b>DMLT</b> (UFC/g)                               | 200     |
| Dénombrement des entérobactéries autres qu' <i>Escherichia coli</i> et <i>Salmonelle</i> (UFC/g) | 200     |
| Recherche d' <i>Escherichia coli</i>                                                             | Absence |
| Recherche de <i>Salmonelles</i>                                                                  | Absence |
| Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>                                                        | Absence |

## 2.4) Control toxicologique :

### a) Principe :

Le test consiste à administrer par voie intra-gastrique (orale) à des souris albinos de race Swiss une dose du produit relativement élevée par rapport à la dose thérapeutique conseillée afin de déceler la présence d'une ou plusieurs anomalies de nature variée du produit : l'apparition des symptômes d'une maladie donnée ou le déroulement d'une fatalité.



**Figure 24 :** Souris Swiss de race Albinos.

### b) Mode opératoire :

Le test est pratiqué sur 5 souris (par lot) de race Swiss, sélectionnées au hasard et pesées le jour de l'essai, leurs poids doit être compris entre 17 et 24g, ils doivent être du même sexe (dans l'expérience à laquelle on a assisté, c'étaient des femelles). Les souris sont privées de nourriture, sauf de l'eau pendant 12 heures.

Dans un mortier, on broie 6 comprimés de ZANITRA<sup>®</sup> 5 mg, on ajoute 10 ml de NaCl à 0,9% puis homogénéiser la solution.

On administre 0,5 ml de cette solution à chaque souris à l'aide d'une sonde de gavage gastrique.

Dose journalière pour les souris :

5mg       $\longrightarrow$       60kg (poids moyen d'un humain adulte)

X       $\longrightarrow$       1kg

$$X = \frac{[5 \text{ mg} \times 1 \text{ kg}]}{60 \text{ kg}} = 0.083 \text{ mg/kg}$$

0.083 mg / kg est la dose minimale administrée par unité de poids.

La dose maximale tolérée qui ne provoque aucune mortalité est 150 fois la dose minimale.

D'où la dose administrée = 150 x 0.083 = 12.5mg/kg

|        |   |       |
|--------|---|-------|
| 12.5mg | → | 1000g |
| X      | → | 20 g  |

30 mg (les six comprimés broyés)      —————> 10ml (de NaCl 0,9%)

Y mg / souris                                  —————> 0,5 ml (administrée à chaque souris).

1.5 mg/souris est une dose journalière qui dépasse la limite tolérée.

Elle consiste à noter la mort ou non des souris dans les 48 heures qui suivent le test.

## II) Résultats et discussion :

### 1) Résultats du contrôle physico-chimique des matières premières et du produit fini :

#### 1.1) Résultats de l'acide folique :

Les résultats du contrôle physico-chimique de l'acide folique sont représentés dans le tableau 5, ces résultats concernent :

- Les caractères organoleptiques : Aspect et solubilité.
- L'identification physico-chimique : Par l'étude du pouvoir rotatoire.
- Les essais limites : Comprenant la teneur en eau et le dosage par HPLC.

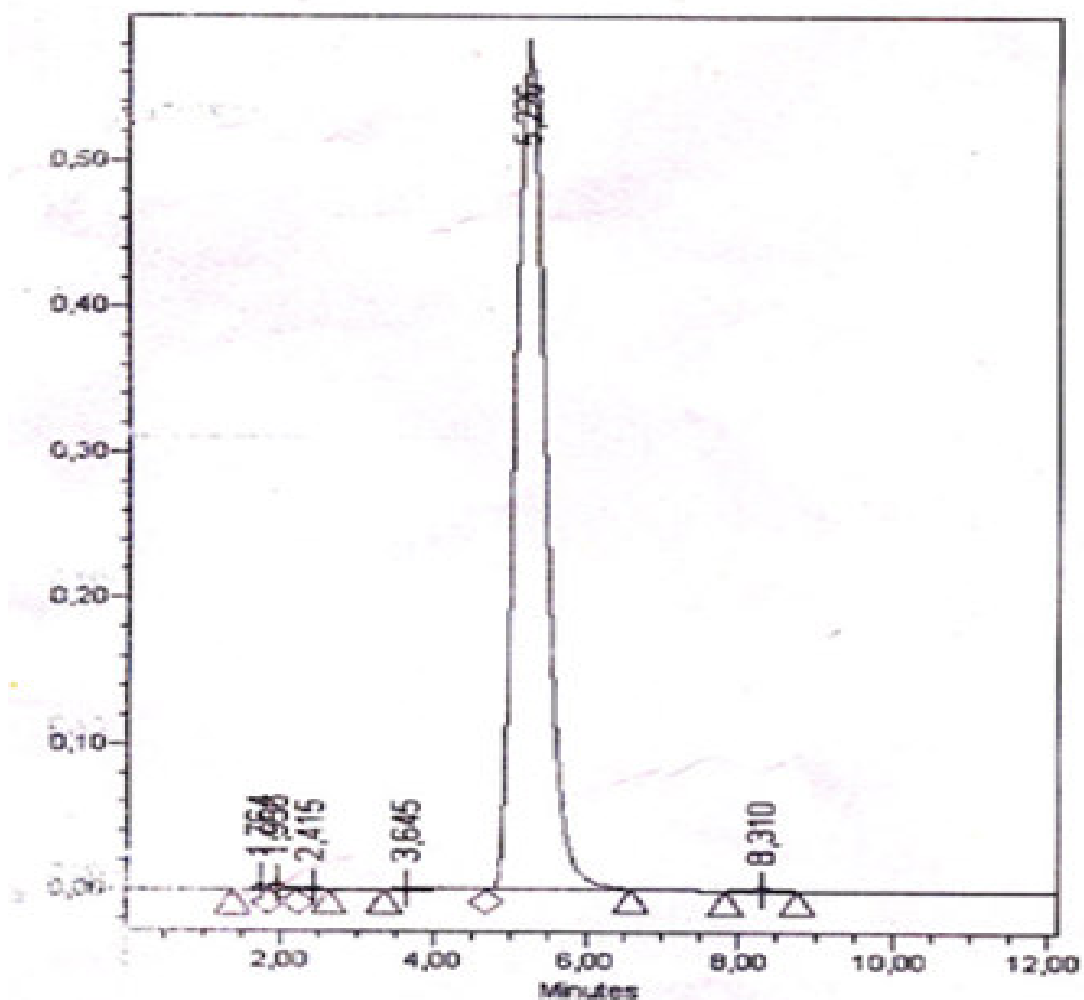
**Tableau 5 : Résultats de l'analyse physico-chimique de l'acide folique :**

| Test                            |                                                                                                           | Lecture                                                                                               | Norme                                                                                                          | Résultats |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Caractères organoleptiques      | Aspect                                                                                                    | Poudre cristalline jaunâtre ou orangée                                                                | Poudre cristalline jaunâtre ou orangée                                                                         | Conforme  |
|                                 | Solubilité dans :<br>-L'eau<br>-Les solvants organiques<br>-Les acides dilués<br>-Les solutions alcalines | -Insoluble<br>-Insoluble<br><br>-Soluble<br>-Soluble                                                  | Insoluble dans l'eau et les solvants organiques mais soluble dans les acides dilués et les solutions alcalines | Conforme  |
| Identification physico-chimique | Pouvoir rotatoire                                                                                         | $\alpha = +0,18$<br><br>$\frac{+0.18 \times 50 \times 100}{0.4928 \times (100 - 8.37)}$<br>$= +19,93$ | De +18 à +22                                                                                                   | Conforme  |
| Essais limites                  | Teneur en eau                                                                                             | 8,37%                                                                                                 | De 5% à 8,5%                                                                                                   | Conforme  |
|                                 | Dosage par HPLC                                                                                           | 98,83%                                                                                                | De 90% à 102%                                                                                                  | Conforme  |

### Interprétation des résultats :

D'après le tableau 5 :

- ✓ On constate que l'acide folique étudié se présente sous forme d'une poudre cristalline jaunâtre. Leur aspect correspond donc à la Pharmacopée Européenne (2008).
- ✓ Concernant la solubilité, on constate que l'acide folique est pratiquement insoluble dans l'eau et la plupart des solvants organiques, mais il se dissout dans les acides dilués et les solutions alcalines.
- ✓ Le pouvoir rotatoire établie est de +19,93 il montre donc une conformité à la norme (il doit être entre +18 et +22) selon la Pharmacopée Européenne (2008) (tableau 5).
- ✓ Concernant la teneur en eau, le résultat obtenu est de 8,37%. On constate que ce résultat est conforme à la norme qui est de 5% à 8,5% selon la Pharmacopée Européenne (2008) (tableau 5).
- ✓ Les chromatogrammes de dosage de l'acide folique par HPLC montrent une similitude entre le pic de la solution témoin et celui de la solution essai (voir figure 25 et 26). C'est-à-dire que le principe actif a presque le même temps de rétention pour les deux solutions, comportant donc le même chiffre avant la virgule (5.226min pour le témoin et 5.205min pour l'essai) (tableau 6 et 7).  
On remarque les pics parasites sont négligeable, ce qui prouve la pureté de l'acide folique. Le résultat du dosage de l'acide folique est de 98,83%, il est donc conforme à la norme (la norme exige qu'il soit compris entre 90% et 102%) selon la Pharmacopée Européenne (2008).

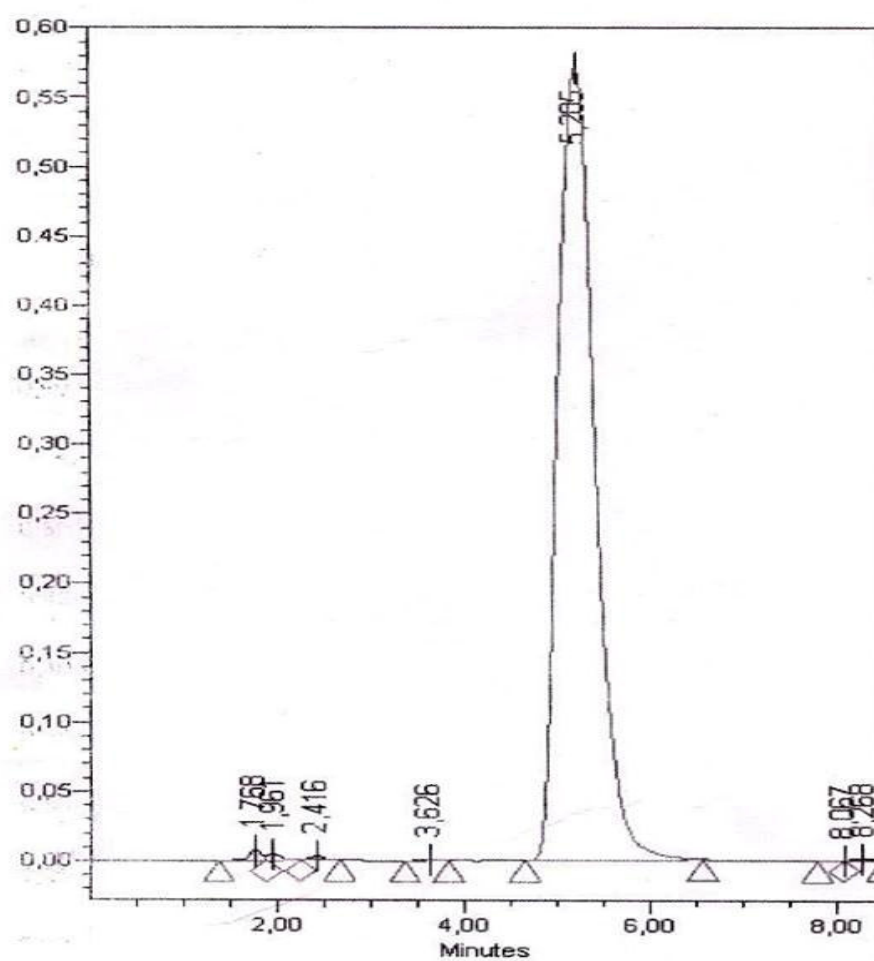


**Figure 25** : Chromatogramme de la solution témoin b pour le dosage de l'acide folique par HPLC.

**Tableau 6** : Résultats chromatographiques du témoin pour le dosage de l'acide folique pure :

|   | Nom | Temps de rétention (min) | surface  | % surface |
|---|-----|--------------------------|----------|-----------|
| 1 |     | 1,764                    | 44614    | 0,28      |
| 2 |     | 1,956                    | 49451    | 0,31      |
| 3 |     | 2,415                    | 17182    | 0,11      |
| 4 |     | 3,645                    | 32246    | 0,20      |
| 5 | A.F | 5,226                    | 15726216 | 98,83     |
| 6 |     | 8,310                    | 42238    | 0,27      |

## Essai lot FAE 10/16-17



**Figure 26** : Chromatogramme de la solution essai pour le dosage de l'acide folique par HPLC.

**Tableau 7** : Résultats chromatographiques de la solution essai pour le dosage de l'acide folique pure :

|   | Nom | Temps de rétention (min) | surface  | % surface |
|---|-----|--------------------------|----------|-----------|
| 1 |     | 1,768                    | 71101    | 0,45      |
| 2 |     | 1,961                    | 44846    | 0,28      |
| 3 |     | 2,416                    | 29395    | 0,18      |
| 4 |     | 3,626                    | 9211     | 0,06      |
| 5 | A.F | 5,205                    | 15754283 | 98,90     |
| 6 |     | 8,067                    | 5225     | 0,03      |
| 7 |     | 8,268                    | 15094    | 0,09      |



## Discussion :

L'étude de l'aspect de l'acide folique a donné une idée initiale sur la nature et la qualité de la matière analysée.

Concernant la solubilité : bien que l'acide folique (vitamine B9) soit classé parmi les vitamines hydrosolubles dans la majorité des ouvrages, mais selon **Frénot et Vierling (2001)**, l'acide folique se présente sous forme d'une poudre jaune orangée. Il est soluble dans les acides et les bases dilués, peu soluble dans l'eau, insoluble dans l'éthanol, l'acétone, l'éther et le chloroforme.

Ce paradoxe fait l'étude de la solubilité de l'acide folique dans l'eau, un critère essentiel à étudier. Quant à l'étude de la solubilité de l'acide folique dans l'eau, les solvants organiques, les acides dilués et les solutions alcalines, elle nous a permis de confirmer que l'acide folique est pratiquement insoluble dans l'eau et la plupart des solvants organiques, cependant il se dissout dans les acides dilués et les solutions alcalines (**Frénot et Vierling, 2001**).

Toute molécule chirale est douée de pouvoir rotatoire ; lorsqu'elle est traversée par un faisceau de lumière polarisée plane, elle provoque une rotation dextrogyre ou lévogyre du plan de polarisation (**Depovre, 2005**).

Donc d'après nos résultats du pouvoir rotatoire (+19,93), nous concluons qu'il existe un carbone asymétrique qui représente donc un centre de chiralité au niveau de la structure de l'acide folique.

Le résultat de la teneur en eau nous renseigne sur la bonne déshydratation et conservation du principe actif, ce qui réduit les risques de contamination microbienne par la diminution de l'activité de l'eau car les micro-organismes exigent pour leur croissance un certain seuil d'humidité sinon ils ne se développent pas (**Delarras, 2014**).

Le dosage du principe actif est aussi fondamental car il permet de s'assurer de la présence du médicament en concentration similaire aux normes du produit (**Kirkiacharian, 2007**).

Par conséquent, à partir du résultat évoqué sur le tableau 5, le dosage par HPLC nous a indiqué la conformité de dose de la substance active à la norme décrite dans la Pharmacopée Européenne (2008), ainsi la pureté de ce dernier vu l'absence de pics parasites.

## 1.2) Résultats de l'amidon de maïs :

Les résultats obtenus lors de l'analyse de l'amidon de maïs sont représentés dans le tableau 8.

Ces résultats concernent :

- Les caractères organoleptiques : Aspect et solubilité.
- L'identification physico-chimique : Par chauffage à ébullition et coloration avec l'iode.
- Les essais limites : pH, le fer, la perte à la dessiccation, les cendres sulfuriques et les substances oxydantes.

**Tableau 8 : Résultats de l'analyse physico-chimique de l'amidon de maïs :**

| Test                       |                                                        | Lecture                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Norme                                                                                              | Résultats |
|----------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Caractères organoleptiques | Aspect                                                 | Poudre d'un blanc mat à faiblement jaunâtre, très fine, qui crisse sous la pression des doigts.                                                                                                                                                                                                                                                                       | Poudre d'un blanc mat à faiblement jaunâtre, très fine, qui crisse sous la pression des doigts.    | Conforme  |
|                            | Solubilité dans :<br>-L'eau froide<br>-L'éthanol à 96% | -Insoluble<br>-Insoluble                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Pratiquement insoluble dans l'eau froide et dans l'éthanol à 96%                                   | Conforme  |
| Identification             | Chauffage à ébullition                                 | Formation d'un empois trouble et liquide de couleur blanchâtre                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Formation d'un empois trouble et liquide                                                           | Conforme  |
|                            | Coloration avec l'iode                                 | Coloration rouge-orange à bleu foncé qui disparaît par chauffage                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Coloration rouge-orange à bleu foncé qui disparaît par chauffage                                   | Conforme  |
| Essais limites             | pH                                                     | 5,35                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 4 à 7                                                                                              | Conforme  |
|                            | Le fer                                                 | La coloration rose éventuelle de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin                                                                                                                                                                                                                                                                    | La coloration rose éventuelle de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin | Conforme  |
|                            | Perte à la dessiccation                                | $\frac{(67,5446 + 1,0043) - 68,4347}{1,0043} \times 100$<br>= 11,37%                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | ≤ 15%                                                                                              | Conforme  |
|                            | Cendres sulfuriques                                    | $\frac{20,1498 - 20,1476}{1,0058} \times 100$<br>= 0,22%                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | ≤ 0,6                                                                                              | Conforme  |
|                            | Les substances oxydantes                               | <b>Veq(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) = 0,15ml</b><br><br><b>1ml de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 34 µg de Sub. Oxy</b><br><b>0.15ml = 5,1 µg de Sub. Oxy</b><br><br><b>La teneur en substances oxydantes =</b><br><br>$\frac{m_{sub\ oxy}}{V_{eq(Na_2S_2O_3)}} = \frac{5.1}{0.15 \times 10^3} = 0,034\ \mu\text{g/ml}$<br><b>= 0,034 ppm</b> | ≤ 20ppm                                                                                            | Conforme  |

## Interprétation des résultats :

D'après le tableau 8 :

- ✓ Nous avons constaté que pour l'échantillon étudié (l'amidon de maïs) se présente sous forme d'une poudre d'un blanc mat à faiblement jaunâtre, très fine, qui crisse sous la pression des doigts. Il est pratiquement insoluble dans l'eau et dans l'éthanol à 96%. L'amidon de maïs présente donc un aspect et des caractères de solubilité conforme aux normes de la Pharmacopée Européenne (2008).
- ✓ Après chauffage à ébullition de la suspension d'amidon de maïs il s'est formé un empois trouble qui s'est coloré en rouge-orange à bleu foncé en réagissant avec l'iode. Ce résultat nous permet d'affirmer que l'identification de l'amidon de maïs s'est avérée positive.
- ✓ Le pH de la solution d'amidon de maïs est de 5,35. Il est donc conforme à la norme (entre 4 et 7) de la Pharmacopée Européenne (2008) (Tableau 8).
- ✓ Concernant le fer, la coloration rose de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin, conformément à la norme selon la Pharmacopée Européenne (2008).
- ✓ Le taux de la perte à la dessiccation est de 11,37%. Le résultat de ce paramètre est dans la norme (il doit être  $\leq 15\%$ ) (Tableau 8).
- ✓ Pour le taux des cendres sulfuriques, le résultat obtenu est de 0,22%. Ce taux est inférieur à la limite tolérée qui est de 0,6%, ce qui permet d'affirmer qu'il est conforme à la norme.
- ✓ Enfin pour la teneur en substances oxydantes, le résultat obtenu est de 0,034 ppm. Il est largement inférieur à la limite tolérée (il doit être  $\leq 20$  ppm), ce qui permet de dire qu'il est conforme à la norme.

## Discussion :

L'étude des caractères organoleptiques a les mêmes intérêts que ceux cités pour le principe actif.

Concernant la solubilité, d'après **Charreau et al. (2006)**, l'amidon de maïs est insoluble dans l'eau froide. Il se solubilise avec l'augmentation de la température.

Par conséquent, il est similaire à celui de **Charreau et al. (2006)**.

Le résultat du pH (qui est égale à 5,35), indique l'absence d'impuretés alcalines ou acides au niveau de l'excipient.

Le résultat du fer témoigne de l'absence d'impuretés de nature ferrique ainsi que le faible taux de la perte à la dessiccation (11,37%) indique la bonne déshydratation et la bonne conservation de l'amidon de maïs.

Quant au faible taux des cendres sulfuriques, il nous permet de déduire que l'amidon de maïs ne contient pas d'impuretés minérales.

L'ensemble des résultats obtenus, va permettre de certifier que cet excipient est d'une qualité satisfaisante et répond aux normes de la Pharmacopée Européenne (2008).

### 1.3) Résultats de contrôle physico-chimique du produit fini :

Les résultats du produit fini sont révélés dans le tableau 9 et qui concernent :

- Le caractère organoleptique : Aspect.
- L'identification physico-chimique : Par spectrophotométrie.
- Les essais limites : Poids moyen, uniformité de masse, friabilité, temps de délitement, test de dissolution et le dosage de l'acide folique.

**Tableau 9 : Résultats de l'analyse physico-chimique du produit fini :**

| Test                     |                     | Norme                                                                                                                                         | Lecture                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Résultat |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Caractère organoleptique | Aspect              | Comprimés jaunes, ronds, aux bords chanfreinés, lisses et brillants                                                                           | Comprimés jaunes, ronds, aux bords chanfreinés, lisses et brillants                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Conforme |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| Identification           | Spectrophotométrie  | 2,8 à 3                                                                                                                                       | $A_{256}/A_{365} = 0,590/0,206 = 2,9$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Conforme |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| Essais limites           | Poids moyen (mg)    | 92.5 à 107.5                                                                                                                                  | Pesée de 10 comprimés<br><b>P = 1018,6mg</b><br><b>Pm = 1018,6/10 = 101,86mg</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Conforme |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|                          | Uniformité de masse | La masse individuelle de 2/20 Cps au plus peuvent s'écarter du poids moyen de 7,5%, mais la masse d'aucun Cp ne peut s'écarter de plus de 15% | <table><tr><td>101,7</td><td>102,5</td><td>100,1</td><td>100,1</td></tr><tr><td>103,6</td><td>101,6</td><td>104,8</td><td>102,8</td></tr><tr><td>100,5</td><td>100,9</td><td>101,4</td><td>103,5</td></tr><tr><td>101,4</td><td>101,4</td><td>103,8</td><td>103,3</td></tr><tr><td>103,1</td><td>107,5</td><td>103,4</td><td>102,5</td></tr></table><br><div><div>101,86mg</div><div>→</div><div>100%</div></div> <div><div>Xmin</div><div>→</div><div>7,5%</div></div><br><div><div>Xmin</div><div>=</div><div>101,86</div><div>×</div><div>7,5%</div><div>=</div><div>7,64mg</div></div> <div>D'où :</div> <div>100,1 ± 7,64 l'intervalle est</div> <div><div>]</div><div>92,46</div><div>;</div><div>107,74</div><div>[</div></div> <div>Aucun comprimé de dépasse les limites.</div> <div><div>101,86mg</div><div>→</div><div>100%</div></div> <div><div>Xmax</div><div>→</div><div>15%</div></div><br><div><div>Xmax</div><div>=</div><div>101,86</div><div>×</div><div>15%</div><div>=</div><div>15,28mg</div></div> <div>D'où :</div> <div>107,5 ± 15,28 l'intervalle est</div> <div><div>]</div><div>92,22</div><div>;</div><div>122,78</div><div>[</div></div> <div>Aucun comprimé ne peut s'écarter de plus de 15%</div> | 101,7    | 102,5 | 100,1 | 100,1 | 103,6 | 101,6 | 104,8 | 102,8 | 100,5 | 100,9 | 101,4 | 103,5 | 101,4 | 101,4 | 103,8 | 103,3 | 103,1 | 107,5 | 103,4 | 102,5 |
| 101,7                    | 102,5               | 100,1                                                                                                                                         | 100,1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 103,6                    | 101,6               | 104,8                                                                                                                                         | 102,8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 100,5                    | 100,9               | 101,4                                                                                                                                         | 103,5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 101,4                    | 101,4               | 103,8                                                                                                                                         | 103,3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 103,1                    | 107,5               | 103,4                                                                                                                                         | 102,5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |

|       |                                   |               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
|-------|-----------------------------------|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|------|------|---|-------|--------------|---|-------|--------------|---|-------|---------------|---|-------|--------------|---|-------|--------------|---|-------|--------------|----------|
|       | Test de désagrégation             | ≤ 15min       | 57 secondes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Conforme |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
|       | Friabilité                        | ≤ 1%          | Pi = 6,5791mg<br>Pf = 6,5579mg<br><br>$F\% = \frac{6.5791-6.5579}{6.5791} \times 100$<br><b>F% = 0,32%</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Conforme |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
|       | Dosage de l'acide folique (mg/cp) | 4,5 à 5,5     | PEessai = 200,5mg<br>PEétalon = 92,96mg<br>PM = 101,86mg<br><br>$Q = \frac{DO_{es}}{DO_{ét}} \times \frac{PE_{ét}}{PE_{es}} \times \frac{PM}{10} \times \frac{1}{100} \times \textit{teneur}$<br><br>$= \frac{0.590}{0.543} \times \frac{92.96}{200.5} \times \frac{101.86}{10} \times \frac{1}{100} \times 99.69$<br><br><b>Q = 5,11mg/cp</b>                                                                                                                                                                                                                                                                       | Conforme |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
|       | Test de dissolution               | ≥ 75%         | PEétalon = 55,5mg<br>DOétalon = 0,334<br>Titre (%) = 98,98%<br>D = 5mg<br><br>$Q\% = \frac{DO_{es}}{DO_{ét}} \times \frac{P_{et}}{100} \times \frac{1}{100} \times \frac{900}{D} \times \textit{titre}$<br><br><table><tr><td>Essai</td><td>Abs.</td><td>Q(%)</td></tr><tr><td>1</td><td>0,306</td><td><b>90,59</b></td></tr><tr><td>2</td><td>0,309</td><td><b>91,48</b></td></tr><tr><td>3</td><td>0,340</td><td><b>100,66</b></td></tr><tr><td>4</td><td>0,300</td><td><b>88,81</b></td></tr><tr><td>5</td><td>0,334</td><td><b>98,88</b></td></tr><tr><td>6</td><td>0,302</td><td><b>89,41</b></td></tr></table> | Essai    | Abs. | Q(%) | 1 | 0,306 | <b>90,59</b> | 2 | 0,309 | <b>91,48</b> | 3 | 0,340 | <b>100,66</b> | 4 | 0,300 | <b>88,81</b> | 5 | 0,334 | <b>98,88</b> | 6 | 0,302 | <b>89,41</b> | Conforme |
| Essai | Abs.                              | Q(%)          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
| 1     | 0,306                             | <b>90,59</b>  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
| 2     | 0,309                             | <b>91,48</b>  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
| 3     | 0,340                             | <b>100,66</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
| 4     | 0,300                             | <b>88,81</b>  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
| 5     | 0,334                             | <b>98,88</b>  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |
| 6     | 0,302                             | <b>89,41</b>  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |      |      |   |       |              |   |       |              |   |       |               |   |       |              |   |       |              |   |       |              |          |

## Interprétation des résultats :

D'après le tableau 9 :

- ✓ Les comprimés testés ont une forme ronde, aux bords chanfreinés, lisses, brillants, conformément aux normes établies par la Pharmacopée Européenne (2008).
- ✓ Le rapport  $A_{256}/A_{365}$  est dans l'intervalle **[2,8 ; 3]**, il est par conséquent conforme à la norme décrite par la Pharmacopée Européenne (2008).
- ✓ Concernant la masse moyenne, aucun comprimé ne s'est écarté de l'intervalle **[-7,5% ; +7,5%]** ni de l'intervalle **[-15% ; +15%]**. Ces résultats montrent que la masse moyenne des comprimés testés est conforme à la norme prescrite par la Pharmacopée Européenne (2008).
- ✓ Le taux de friabilité est de **0,32%**, il est donc conforme à la norme ( $\leq 1\%$ ) exigée par la Pharmacopée Européenne (2008) (Tableau 9).
- ✓ Le temps de délitement (désagrégation) de tous les comprimés analysés est conforme à la norme établie par la Pharmacopée Européenne (2008) ( $\leq 15\text{min}$ ).
- ✓ Le résultat de dosage de l'acide folique obtenu est de **5,11mg/cp**. On remarque donc la conformité de la dose du principe actif à la norme (4,5mg/cp à 5,5mg/cp) selon la Pharmacopée Européenne (2008) (Tableau 9).
- ✓ Le pourcentage du principe actif est nettement supérieur à 75%, il est donc conforme à la norme établie par la Pharmacopée Européenne (2008).

## Discussion :

L'étude des caractères organoleptiques a les mêmes intérêts que ceux du principe actif.

Les résultats de l'uniformité de masse nous ont donné une masse moyenne conforme aux normes, ce qui indique l'homogénéité des comprimés.

Concernant la friabilité, le résultat est de **0,32%**, ce faible taux donne une forte sécurité contre les chocs mécaniques au moment du conditionnement, du transport et de la distribution du médicament.

Le temps de délitement est très court, on peut donc dire que les comprimés se délitent facilement au niveau de l'œsophage, ce qui favorise la dispersion et l'absorption du principe actif.

Le résultat de dosage de l'acide folique prouve d'une part, la bonne maîtrise du processus de fabrication, et d'autre part que la posologie de prescription satisfera aux besoins des patients.

Le pourcentage du principe actif dissout nous démontre l'efficacité relative de ZANITRA®.

L'ensemble des analyses physico-chimiques va permettre de juger le produit fini ZANITRA® 5mg comme étant d'une bonne qualité physicochimique.

## 2) Résultats de contrôle microbiologique du produit fini :

Les résultats des analyses microbiologiques du produit fini sont représentés sur le tableau 10 :

**Tableau 10** : Résultats d'analyse microbiologique du produit fini :

| Test                         |                        | Résultats | Norme (PE, 2011) UFC/g | Etat     |
|------------------------------|------------------------|-----------|------------------------|----------|
| Germes viables               | Bactéries              | 00 UFC/g  | ≤2000 UFC/g            | Conforme |
|                              | Levures et moisissures | 00 UFC/g  | ≤200 UFC/g             | Conforme |
| Entérobactéries              |                        | ≤10 UFC/g | ≤200 UFC/g             | Conforme |
| <i>Escherichia coli</i>      |                        | Absence   | Absence                | Conforme |
| <i>Salmonelles</i>           |                        | Absence   |                        |          |
| <i>Staphylococcus aureus</i> |                        | Absence   |                        |          |

### Interprétation des résultats :

D'après le tableau 10 :

- ✓ On constate qu'il y a une absence totale des germes viables (bactéries, levures et moisissures) chez le lot étudié, ce résultat est conforme à la norme exigée par la Pharmacopée Européenne (2011), ≤2000 UFC/g chez les bactéries et ≤200 UFC/g chez les levures et moisissures.
- ✓ La valeur des entérobactéries est inférieure à la norme (≤200 UFC/g) de la Pharmacopée Européenne (2011), ce qui indique que leur présence (≤10 UFC/g) est non significative.
- ✓ On constate aussi qu'il y a une absence totale des germes pathogènes (*Escherichia coli*, *Salmonelles* et *Staphylococcus aureus*) conformément à la norme selon la Pharmacopée Européenne (2011) (Tableau 10).

## Discussion :

Les essais décrits pour le contrôle microbiologique des produits non stériles (dénommé aussi « dénombrement des germes aérobies viables totaux » - Monographie 2.6.12 de la Pharmacopée Européenne) permettent le dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et des levures capables de se développer en aérobiose. Ces essais servent avant tout à déterminer si un produit est conforme aux exigences microbiologiques spécifiées de sa monographie (**Roché et Niel, 2006**).

Donc d'après le tableau 10 pour les bactéries viables totales ainsi que pour les levures et les moisissures, on remarque l'absence de toutes proliférations microbiennes, ces résultats sont conformes aux exigences microbiologiques décrites par la Pharmacopée Européenne (2011).

Néanmoins, on a trouvé un taux de 10 UFC/g des entérobactéries qui n'est pas significatif par rapport à la limite tolérée donc négligeable.

Pour *Escherichia coli*, *Salmonelles*, *Staphylococcus aureus*, selon **Roché et Niel (2006)**, les essais décrits pour ces micro-organismes sont en règle générale, pour les produits pharmaceutiques et cosmétiques, des tests négatifs. Il ne doit pas être observé de colonies du type décrit.

Par conséquent dans notre étude, on constate une absence totale de ces germes pathogènes, nos résultats corroborent ceux de **Roché et Niel (2006)**.

Enfin, le fait que le médicament soit sous forme de comprimés anhydres, empêche toute prolifération microbienne.

Ceci nous permet donc d'en déduire que les comprimés ZANITRA® 5mg sont d'une bonne qualité microbiologique. Et cela est dû à plusieurs facteurs, à savoir :

- L'efficacité de la désinfection du matériel et des locaux.
- L'absence de contamination lors de la fabrication et du prélèvement des échantillons.
- L'absence des impuretés dans les matières premières.
- Le respect des bonnes pratiques d'hygiène.



### 3) Résultats de contrôle toxicologique du produit fini :

Les résultats de contrôle toxicologique du produit fini ZANITRA® 5mg réalisés sur les souris albinos sont représentés dans le tableau 11 :

**Tableau 11** : Résultats de contrôle toxicologique du produit fini :

| Test     | Résultat                           | Norme (PE, 2008)                   | Etat     |
|----------|------------------------------------|------------------------------------|----------|
| Toxicité | Absence d'anomalie et de mortalité | Absence d'anomalie et de mortalité | Conforme |

#### Interprétation des résultats :

D'après le tableau 11 :

Le test de toxicité de produit fini ZANITRA® 5mg qui a été réalisé avec une dose journalière plus élevée (1,5mg) que la dose journalière recommandée chez les souris (0,25mg) confirme que ce médicament ne présente aucune mortalité chez les animaux pour une période de 48 heures.

#### Discussion :

L'absence de mortalité ainsi que l'état normal des souris indique qu'il n'existe pas d'impuretés dans la matière première ni d'addition accidentelle ou criminelle d'un autre principe actif ou d'un élément toxique. Cela témoigne que les conditions de fabrications ont été strictement respectées permettant ainsi d'obtenir un produit fini satisfaisant et conforme aux normes préconisées par la Pharmacopée Européenne (2008).

## CONCLUSION

Ce travail de mémoire nous a permis d'appréhender les règles de production dans l'industrie pharmaceutique.

La fabrication des médicaments nécessite un savoir-faire élaboré, nous avons effectué notre stage de fin d'études dans une entreprise leader de ce secteur en Algérie.

Dans ce travail nous avons considéré un médicament non obligatoirement stérile « ZANITRA® » utilisé dans les posologies antianémiques.

Les tests de contrôle que nous avons effectués sur ce médicament ont montré des caractéristiques d'un produit de bonne qualité.

Par ailleurs, nous avons constaté que les travailleurs et cadres de BIOTIC (Gué de Constantine) maitrisaient correctement la production des médicaments fabriqués dans leurs unités.

D'après les résultats des contrôles, le ZANITRA commercialisé, sous licence, par BIOTIC répond parfaitement aux normes de la Pharmacopée Européenne. On peut donc conclure que le produit peut être délivré aux patients sans aucun risque.



## Références bibliographiques

**Aiache J.M., Beyssac E., Cardot J.M., Hoffart V. et Renoux R., 2008** : Initiation à la connaissance du médicament. 5<sup>ème</sup> Edition Elsevier Masson SAS., p413.

**Alexandre P., 2014** : El kouri, la qualité et ses outils applicatif, Université de Nantes, Faculté de Pharmacie.

**Allo O., Blanc P. et Dalmasso M.A., 2005** : Pharmacie Galénique BP. 2<sup>ème</sup> Edition Groupe liaisons SA., p127.

**Altavilla A., 2012** : La recherche sur les cellules souches, quels enjeux pour l'Europe ? L'harmattan.,p673.

**ANSM, 2013** : Le glossaire, excipient (dernière consultation le 30/10/13).

**Aveline L., Cartier O., Cuer P., Daucé P., March C., Désévéday E., Dovillez P., Duchet N. et autres, 2000** : Gériatrie. ESTEM (éditions scientifiques, techniques et médicales).,p359.

**Ayadin M. et Habib J.L., 2013** : Chimie générale. Presses universitaires de Louvain., p373.

**Bonnefoy C., Guillet F., Leyral G. et Verne-Bourdais E., 2002** : Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Edition Doin., p248.

**Branger A., Richer M.M. et Roustel S., 2007** : Alimentation et processus technologiques.Educagri éditions, Dijon., p295.

**Charreau V., Etienne N. et Ingargiola E., 2006** : A la découverte des aliments.Educagri éditions, Dijon., p352.

**Courtot D. et Jaussaud P., 1990** : Le contrôle antidopage chez le cheval. Edition INRA, Paris., p155.

**Daine F., 2016** : Article en ligne de la revue de santé « **Doctissimo** », mis à jour le 27 septembre 2016.

**Delarras C., 2014** : Pratique en microbiologie de laboratoire, recherche de bactéries et levures-moisissures. Edition Lavoisier, Paris., p757.

**Depovre P., 2005** : Chimie organique. 2<sup>ème</sup> Edition De Boeck et Larcier SA., p115.

**Dessaigne A., 2004** : Maitrisez la fiche posologique d'un médicament. Editions heures de France., p71.

**Dictionnaire SAIDAL 2005.**

**Encyclopédie des sciences, 1976** : Chimie, Grange Batelière, Paris., p308.

**Fontenneau J.M. et Klusiewicz P., 2008** : Cahiers du préparateur en pharmacie, Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments. Edition Wolters Kluwer, France., p264.

**Frénat M. et Vierling E., 2001** : Biochimie des aliments Diététique du sujet bien portant. 2<sup>ème</sup> Edition Doinéditeurs., p301.

**Gazengel J.M. et Orecchioni A.M., 2013** : Le préparateur en pharmacie. 2<sup>ème</sup> Edition Lavoisier., p1727.

**Gentilini M., Caumes E., Danis M., Richard-Lenoble D., Bégué P., Touze J.E. et Kerouédan D., 2012** : Médecine Tropicale. 6<sup>ème</sup> Edition Lavoisier, Paris., p1279.

**Goetz-Lopes V., 2007** : Industrie pharmaceutique, logistique de distribution. Techniques de l'Ingénieur., AG 5 435-2.

**Guillerme D., 2014** : Evolutions majeures en chromatographie liquide. Techniques de l'Ingénieur., 1 494-1.

**Hulse J.H., 2008** : Développement durable, un avenir incertain. Les presses de l'Université Laval., p379.

**Kirkiacharian S., 2007** : Chimie médicinale, Structure et activité du médicament. Techniques de l'Ingénieur., 3 280-23.

**Léonard L. et Ben Amar M., 2002** : Les psychotropes, pharmacologie et toxicomanie. Les Presses de L'Université de Montréal., p881.

**Marolla M., Lefrère F. et Traineau R., 2008** : Hématologie, transfusion sanguine et soins infirmiers. 4<sup>ème</sup> Edition Wolters Kluwer France., p198.

**Mathieu M.J. et Fonteneau J.M., 2008** : Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie. Wolters Kluwer France., p1409.

**McDowell L.R., 2000**:Vitamins in animal and human nutrition, second edition, Iowa State University Press/Ames.

**Mehta A.B. et Hoffbrand A.V., 2003** : Hématologie. De Boeck Diffusion SA., p197.

**Meunier C., 2003** : Opinion vis-à-vis des médicaments génériques, Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Rouen.

**Pebret F., 2005** : Dictionnaire de pharmacologie générale suivi de Dictionnaire de statistique médicale. Heures de France., p83.

**Pharmacopée Européenne, 2008** : 6<sup>ème</sup> Edition.

**Pharmacopée Européenne, 2009.**

**Pharmacopée Européenne, 2010** : 7<sup>ème</sup> Edition.

**Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., Willey J.M., Sherwood L.M. et Woolverton C.J., 2010** : Microbiologie. 3<sup>ème</sup> Edition De Boeck SA., p1086.

**Rabasso N., 2006** : Chimie organique, généralités, études des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques. De Boeck et Larcier SA., p345.

**Raiffaud C., 2001** : Produits « bio » De quelle qualité parle-t-on ? Educagriéditions.,p183.

**Roché Y. et Niel P., 2006** : Analyses en microbiologie-produits non stériles. Techniques de l'Ingénieur., 3 352-2 – 3 352-5.

**Stora D., 2008** : Pharmacie et surveillance infirmière. 5<sup>ème</sup> Edition Wolters Kluwer France., p372.

**Stora D., 2010** : Pharmacologie BP, Classes pharmacologiques. 4<sup>ème</sup> Edition Wolters Kluwer France.,p415.

**Talbert M., Willoquet G. et Gervais R., 2009** : Le guide pharmaco clinique. Wolters Kluwer France., p1043.

**Vidal, 2012** : Base des données en ligne des prescripteurs.

**Vaubourdolle M., 2007** : Médicaments. 3<sup>ème</sup> Edition Wolters Kluwer SA. Tome 4, p855.

## ANNEXE 1

### Matériels non biologique

1-Matériel utilisé pour le contrôle physicochimique :

**Tableau :** Matériels et réactifs utilisés pour le contrôle physicochimique

| Appareils                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Réactifs                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Verreries                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| -Agitateur magnétique.<br>-Appareil de mesure du temps de délitement des comprimés.<br>-Balance précise.<br>-Dessiccateur.<br>-Etuve de paillasse.<br>-Friabilimètre ERWEKATA.<br>-Four à moufle.<br>-Lampe à UV.<br>-Hotte chimique aspirante.<br>-Minéralisateur.<br>-Spectrophotomètre UV/Visible.<br>-Polarimètre.<br>-pH mètre.<br>-HPLC Model (WATERS). | -Acidechlorhydriquedilué (1/10).<br>-Acide sulfurique.<br>-Ammoniaque.<br>-Ethanol à 96%.<br>-Hydroxyde de Sodium 0,1M.<br>-Phosphate di-potassique à 5,5g/L.<br>-Phosphate mono-potassique à 11,16g/L.<br>-Alcool 96%.<br>-Solution de Carbonate de sodium à 28,6g/L.<br>-Solution à 1ppm de Fer.<br>-Solution d'iode.<br>-Méthanol.<br>-NaOH 0,1N. | -Micropipette.<br>-Poire.<br>-Portoirs.<br>-Tubes à essais.<br>-Pipettes en verre graduées (10ml, 20ml et 25ml).<br>-Fioles jaugées en verre (50ml, 100ml et 150ml).<br>-Erlenmeyers.<br>-Bêcher.<br>-Burette.<br>-Creuset.<br>-Entonnoir en verre et en plastique.<br>-Eprouvette en verre graduée.<br>-Gants.<br>-Papiers filtres.<br>-Papier en aluminium.<br>-Spatule en inox. |

**2-Appareillage et matériel utilisés pour le contrôle microbiologique :**

- Pipettes graduées stériles.
- Tubes à essais.
- Bec benzène.
- Etuve réglée à 25°C, 37°C et 44°C Model (MEMMERT).
- Four de stérilisation 180°C.

**3-Appareillage et matériel utilisés pour le contrôle toxicologique :**

- Mortier.
- Sonde à gavage gastrique.
- Seringue 2ml.
- Pince.
- Balance de précision.
- Gant à usage unique.



## ANNEXE 2

### COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE

#### Bouillon au Tétrathionate-bile-vert-brillant (TBG) :

|                                 |        |
|---------------------------------|--------|
| Peptone.....                    | 8,6g   |
| Bile de bœuf séché.....         | 8g     |
| Chlorure de sodium.....         | 6,4g   |
| Carbonate de Calcium.....       | 20g    |
| Tétrathionate de potassium..... | 20g    |
| Eau distillée.....              | 1000ml |
| Vert brillant.....              | 0,07g  |
| pH = 7,0 ± 0,2                  |        |

#### Bouillon lactose :

|                                           |        |
|-------------------------------------------|--------|
| Extrait de viande de bœuf.....            | 3g     |
| Hydrolysate pancréatique de gélatine..... | 5g     |
| D-lactose.....                            | 5g     |
| Eau distillée.....                        | 1000ml |
| pH = 6,9 ± 0,2                            |        |

#### Bouillon Mossel :

|                                           |        |
|-------------------------------------------|--------|
| Hydrolysate pancréatique de gélatine..... | 10g    |
| Glucose monohydrate.....                  | 5g     |
| Bile de bœuf déshydraté.....              | 20g    |
| Phosphate mono-potassique.....            | 2g     |
| Phosphate di-sodique.....                 | 6,45g  |
| Vert brillant.....                        | 15mg   |
| Eau purifiée.....                         | 1000ml |
| pH = 7,2 ± 0,2                            |        |

#### Gélose de MacConkey :

|                         |        |
|-------------------------|--------|
| Agar.....               | 13,5g  |
| Peptone de caséine..... | 17g    |
| Peptone de viande.....  | 17g    |
| Chlorure de sodium..... | 5g     |
| Sels biliaires.....     | 1,5g   |
| Lactose.....            | 10g    |
| Rouge neutre.....       | 0,03g  |
| Violet cristallisé..... | 0,001g |
| Eau purifiée.....       | 1000ml |
| pH = 7,1 ± 0,2          |        |

**Gélose Sabouraud-glucosé-gélosé :**

|                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| Peptone de viande et de caséine..... | 10g    |
| Glucose monohydrate.....             | 40g    |
| Gélose.....                          | 15g    |
| Eau distillée.....                   | 1000ml |
| Ph = 5,6 ± 0,2                       |        |

**Gélose vert brillant-rouge de phénol-lactose-saccharose (PBLs) :**

|                                      |         |
|--------------------------------------|---------|
| Peptone de viande et de caséine..... | 10g     |
| Extrait de levure.....               | 3g      |
| Chlorure de sodium.....              | 5g      |
| Lactose.....                         | 10g     |
| Saccharose.....                      | 10g     |
| Agar.....                            | 12g     |
| Rouge de phénol.....                 | 0,08g   |
| Vert brillant.....                   | 0,0125g |
| Eau purifiée.....                    | 1000ml  |
| pH = 6,9 ± 0,2                       |         |

**Gélose Vojel-Johnson :**

|                              |        |
|------------------------------|--------|
| Tryptone.....                | 10g    |
| Extrait de levure.....       | 5g     |
| Mannitol.....                | 10g    |
| Phosphate di-potassique..... | 5g     |
| Chlorure de lithium.....     | 5g     |
| Glycine.....                 | 10g    |
| Rouge de phénol.....         | 0,025g |
| Agar.....                    | 16g    |
| Eau distillée.....           | 1000ml |
| pH = 7,1 ± 0,2               |        |

**Milieu gélose aux peptones de caséine et de soja :**

|                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| Peptone pancréatique de caséine..... | 15g    |
| Peptone papaïnique de soja.....      | 5g     |
| Chlorure de sodium.....              | 5g     |
| Eau distillée.....                   | 1000ml |
| Gélose.....                          | 15g    |
| pH = 7,3 ± 0,2                       |        |

**Solution tampon peptonée au chlorure de sodium à pH = 7 :**

|                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| Phosphate mono-potassique.....       | 3,6g   |
| Phosphate di-sodique di-hydraté..... | 7,2g   |
| Peptone de caséine ou de viande..... | 1g     |
| Chlorure de sodium.....              | 4,3g   |
| Eau distillée.....                   | 1000ml |