

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

وزارة التعليم العالي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université M'hamed Bougarra Boumerdes
Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Département : Génie des procédés

Filière : Génie des procédés

Option : Génie Chimique

THEME

**Etude de la stabilité de l'antibiotique
Augmentin sachet « 1g/125mg Adulte » et
« 500mg/62.5mg Enfant » à GSK Boudouaou
Boumerdes**

Présenté par :

CHETA Imane
SLIMANI Soumia

Soutenu publiquement le 20/07/2019 ; Devant le Jury :

AKSAS..H	M.C.A	Président	UMBB
SOUAM.R	M.C.B	Examineur	UMBB
KIHAL.N	M.A.A	Promoteur	UMBB
TALAHARIS	Superviseur	Co-promoteur	GSK

Promotion 2018/2019

تعتبر دراسة استقرار المضادات الحيوية ، خاصة بيتا لاكتامين ذات أهمية كبيرة نظرا لدورها المهم في الكشف عن وجود جرعة زائدة في المادة الفعالة أو احتمال ظهور شوائب سامة الذي يمكن أن يؤدي ظاهرة مقاومة البكتيريا.

ينتمي المنتج النهائي لـ ® (Augmentin) إلى عائلة بيتا لاكتامين ، يتكون من عنصرين فعالين: الأموكسيسيلين ثلاثي الهيدرات وحمض كلافلانينيك. استند عملنا المنجز على مستوى شركة جلاكسو سميث كلين (GSK) بودواو إلى دراسة استقرار المضاد الحيوي ® (Augmentin) في ظل الشروط التجريبية الحقيقية درجة حرارة : 25 ± 2 درجة مئوية (23 27) درجة مئوية والرطوبة: 60 ± 5 (55 65) % و الشروط التجريبية المتسارعة: درجة حرارة 40 ± 2 درجة مئوية (38 42) درجة مئوية والرطوبة: 75 ± 5 (70 80) % ، حيث مكنا الجزء الأول من النتائج من التحقق من صحة المنتج النهائي ® (Augmentin) 125/ 1 " تسويقه في الجزائر اما الجزء الثاني تطرق الي التحقق من صحة جرعة جديدة من " ® 500 / 62.5 على ترخيص تسويق جزائري (AMM). هذه النتائج تتوافق مع المعايير المطلوبة في الطبعة الثامنة لدستور الأدوية الأوروبي. الكلمات المفتاحية : الاستقرار ، اوجمونتنا ، المضادات الحيوية ،المصادقة

Résumé :

L'étude de stabilité des antibiotiques, notamment des bêta-lactamines, à une importance capitale suite à l'apparition d'éventuels impuretés toxiques ou un sous- dosage en principe actif qui peut déclencher le phénomène de résistance des bactéries. Augmentin® est un antibiotique de la famille des β -lactamine, composé de deux principes actifs : Amoxicilline trihydratée et l'acide clavulanique. Notre travail s'est basé sur les études de stabilité au niveau de l'entreprise GSK sur le produit fini Augmentin® dans les conditions Réelles de Température : 25 ± 2 °C (23 à 27) °C et d'Humidité: 60 ± 5 % (55 à 65) % et dans les conditions Accélérées de Température : 40 ± 2 °C (38 à 42) °C et d'Humidité : 75 ± 5 % (70 à 80) % . Une première partie des résultats a permis la validation d'un produit fini déjà commercialisé « Augmentin® sachet 1g/125mg adulte » en Algérie et la deuxième partie a pris en charge la validation d'une nouvelle dose d' «Augmentin® sachet 500mg/62.5mg enfant» dans le but d'obtenir une autorisation de mise sur le marché (AMM) algérien. Ces résultats sont conformes aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne 8ème édition.

Mots clés : étude de stabilité, Augmentin ,antibiotique, validation

Abstract:

The stability study of antibiotics, especially beta-lactams, is of paramount importance following the appearance of possible toxic impurities or an underdosing of active principle which can trigger the phenomenon of resistance of the bacteria. Augmentin® is an antibiotic of the β -lactam family, composed of two active ingredients:

Amoxicillin trihydrate and clavulanic acid. Our work have been realised in GlaxoSmithKline Boudouaou and based on stability studies on final product

Augmentin® under real temperature conditions: 25 ± 2 °C (23 to 27) °C and Humidity: 60 ± 5 % (55 to 65)% and Accelerated Temperature Conditions: 40 ± 2 °C (38 to 42) °C and Humidity: 75 ± 5 % (70 to 80)%. A first part of the results enabled the validation of a finished product already marketed in Algeria "Augmentin® 1g / 125mg sachet adult" and the second part supported the validation of a new dose of "Augmentin® 500mg sachet / 62.5mg child" in the purpose of obtaining an Algerian Marketing Authorization (MMA). These results comply with the standards required by the European Pharmacopoeia 8th edition.

Keywords : stability study, Augmentin, antibiotic, validation

Remerciements

Tout d'abord, louange à « Allah » qui nous a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et nous a inspiré les bons pas et les justes reflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti. Nous voulons exprimer par ces quelques lignes de remerciements, notre gratitude envers tous ceux, qui par leur présence, leur soutien, leur disponibilité et leurs conseils, nous ont permis de réaliser ce travail. Nous commençons par remercier Mme KIHAL.N qui nous a fait l'honneur d'être notre encadrante. Nous la remercions profondément pour son encouragement continu, et pour avoir été toujours là pour nous écouter, nous aider et nous guider à retrouver le bon chemin par sa sagesse et ses précieux conseils. Nous la remercions également pour son soutien moral et sa grande compréhension, ce qui nous a procuré la force et le courage d'aller au bout de ce projet.

Aussi, nous tenons vivement à remercier notre Co-promotrice, Mme TALAHRI. S, ainsi que tout le personnel du Laboratoire Qualité AB de GSK qui nous ont formée et qui grâce à eux, nous avons pu mener à bien ce travail. Qu'ils veuillent bien trouver ici le témoignage de notre gratitude et de notre très profonde reconnaissance. Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury.

Enfin, nous ne pouvons achever ce mémoire sans exprimer notre gratitude à tous les professeurs du génie des procédés pour leur dévouement et leur assistance tout au long de nos études universitaires.

Un grand merci à tous.

Dédicaces

*Je tiens tout d'abord à remercier le bon « dieu » de m'avoir aidé à
réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*A mon cher père Said qui m'a protégée, guidée et conseillée et qui m'a
comblé par son amour.*

*A ma chère mère Houria qui m'a toujours entouré de son soutien et de
son affection, pour sa tendresse, sa présence irremplaçable et son amour
sans faille*

A mes chers frères surtout Abed Raouf, Zouhir, Mohamed.

A mon mari billal

Merci chéri pour ton amour, ta patience et ton soutien sans faille

A toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines

A ma chère binôme CHETA Iman et sa famille

*Je n'oublie pas de remercier mes amies de fac et d'ailleurs surtout Iman,
Katia, Rima, pour leur sincère amitié et pour leur aide.*

*Mes remerciements vont aussi à l'ensemble des personnes qui ont
contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail*

SLIMANI Soumia

Dédicaces

Je tiens tout d'abord à remercier le bon « dieu » de m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail que je dédie :

*A celle qui m'a donnée la vie ***maman****

Quoi que je fasse ou je dise je n'aurai point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles de la vie.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

*A la mémoire de ma grand- mère **Yamina***

J'aurais tant aimé que vous soyez présente. Que Dieu ait ton âmes dans sa sainte miséricorde.

*A mes chers frères **Oussama** et **Younes***

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège.

*A mon cher mari **Billel** et sa famille*

Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour et la tendresse dont tu m'as toujours entouré. mon soutien moral et source de joie, Que dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

A toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines

*A ma chère binôme **SLIMANI Soumia** et sa famille*

*A tous mes amis surtout **Sourour, Anaïs et Iméne,**
pour leur sincère amitié et pour leur aide.*

Mes remerciements vont aussi à l'ensemble des personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

CHETA Imane

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché
- Amox** : Amoxicilline
- ANSM** : Agence nationale de sécurité du médicament.
- BPF** : Bonnes Pratiques de Fabrication
- BPL** : Bonnes Pratiques de laboratoire
- Clav** : Acide clavulanique
- CQ** : Contrôle de qualité
- CSP** : Code de la Santé Publique
- DGAT**: Dénombrement de germe aérobies totaux;
- DMLT**: Dénombrement de moisissures et levures totaux;
- EMA** : l'Agence européenne d'évaluation des médicaments
- GMP**: Good Manufacturing Practices.
- GSK**: GlaxoSmithKline
- HR** : Humidité relative
- HPLC**: Chromatographie Liquide à Haute Performance
- ISO**: Organisation Internationale de Normalisation
- ICH** : International Conferences of Harmonisation
- KF**: Karl Fischer
- MTI**: Mercury Titration Impurity
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- PA**: Principe actif
- PF** : Produit fini
- pH** : potentiel Hydrogène
- PM** : Poids moyen
- STD**: Standard
- TR**: Temps de rétention
- USP** : United States Pharmacopeia Convention.

Chapitre I : Revue bibliographique

Figure N° 1 : la mise en forme d'un médicament.....	p5
Figure N° 2 : Fabrication de présentations pharmaceutiques.....	p12
Figure N° 3 : Schéma de fabrication d'une présentation médicamenteuse.....	p13
Figure N° 4 : mode d'action des antibiotiques.....	p18

Chapitre III : matériels et méthodes

Figure N° 5 : Organisation du laboratoire contrôle qualité des antibiotiques.....	p29
Figure N° 6 : Les formes disponibles d'Augmentin.....	p30
Figure N° 7 : Structure de l'Amoxicilline tri-hydratée.....	p31
Figure N° 8 : Structure de L'acide clavulanique	p31
Figure N° 9 : étiquette d'identification des échantillons.....	p33
Figure N° 10 : Enceintes climatiques.....	p34
Figure N° 11 : balance analytique METLER TOLEDO.....	p36
Figure N° 12 : pH mètre.....	p37
Figure N° 13 : Titreur Karl Fisher.....	p38
Figure N° 14 : HPLC « waters ».....	p40
Figure N° 15 : Principe de fonctionnement de l'HPLC.....	p40
Figure N° 16 : schéma de préparation phase mobile pour HPLC.....	p41
Figure N° 17 : schéma de préparation du standard des principes actifs.....	p43
Figure N° 18 : schéma de préparation des échantillons.....	p43
Figure N° 19 : potentiomètre Mettler Toledo.....	p46
Figure N° 20 : schéma de préparation de la solution nitrate mercurique 0.02M.....	p46
Figure N° 21 : schéma de préparation de la solution hydroxyde de sodium 1 M.....	p47
Figure N° 22 : schéma de préparation de la solution tampon borate ph 9.0.....	p47
Figure N° 23 : schéma de préparation de la solution tampon acétate ph 4.6.....	p47

Figure N° 24 : schéma de préparation de la solution tampon imidazole ph 5.7.....	p48
Figure N° 25 : schéma du dosage des MTI de l'Amoxicilline.....	p49
Figure N° 26 : Méthodologie du contrôle d'Augmentin ® sachet 1g/125mg Adulte et 500mg/62.5mg Enfant.....	p52
Figure N° 27: Contrôle microbiologique d'Augmentin ® sachet 1g/125mg Adulte et 500mg/62.5mg Enfant.....	p53
Figure N° 28 : Contrôle physico-chimique d'Augmentin ® sachet 1g/125mg Adulte et 500mg/62.5mg Enfant.....	p54

Chapitre IV : Résultats et discussions

Figure N° 29: Chromatogramme d'HPLC du standard de l'Amoxicilline et l'acide clavulanique.....	p55
Figure N° 30 : Chromatogramme d'HPLC de la solution essai d'Augmentin sachet 1g/125mg.....	p56
Figure N° 31 : la variation de la teneur en principes actifs d'Augmentin sachet 1g/125mg dans des conditions réelles.....	p57
Figure N° 32 : la variation de la teneur en principes actifs d'Augmentin sachet 1g/125mg dans des conditions accélérées.....	p58
Figure N° 33: Tendances de l'étude de stabilité d'Augmentin sachet 1g/125mg dans les conditions réelles.....	p61
Figure N° 34 : Tendances de l'étude de stabilité d'Augmentin sachet 1g/125mg dans les conditions accélérées.....	p62
Figure N° 35 : la variation en teneur des principes actifs des lots 808001-808002-808004 d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles.....	p64-65
Figure N° 36 : la variation en teneur des principes actifs des lots 808001-808002-808004 d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les conditions accélérées.....	p66

Liste des figures

- Figure N° 37** : Tendance de l'étude de stabilité dans les conditions réelles d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg des trois lots de validation N°808001-808002-808004.....p68-69
- Figure N° 38** : Tendance de l'étude de stabilité dans les conditions accélérées d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg des trois lots de validation N°808001-808002-808004.....p70-71

ANNEXES

- Figure N° 39** : courbe d'évolution de la [PA] en fonction du temps et à T° constante
- Figure N° 40** : courbe d'évolution de log K en fonction de 1/t

Chapitre I : Revue bibliographique

Tableau N° 1 : voies et formes d'administration des médicaments.....p7-8

Tableau N° 2 : Les principales formes galéniquesp9-10

Tableau N° 3 : Les grandes familles des antibiotiquesp17

Chapitre II : la stabilité

Tableau N° 4 : les grandes zones climatiques :.....p23-24

Tableau N° 5 : les conditions de stockage :.....p24

Tableau N° 6 : Synthèse des études de stabilité :.....p25-26

Chapitre III : matériels et méthodes

Tableau N° 7 : plan d'échantillonnage :.....p32

Tableau N° 8 : Essai réalisé sur le produit fini :.....p34

Tableau N° 9 : Analyses et normes appliquées sur Augmentin sachet 1g/125mg et
500mg/62.5mg :.....p35

Tableau N° 10 : gradient d'élution pour l'injection des solutions échantillonsp42

Tableau N° 11 : plan d'injection :.....p44

Chapitre IV : Résultats et discussions

Tableau N° 12 : Résumé Temps de rétention, Surface et hauteur du chromatogramme du standard
1.....p56

Figure N° 13 : Chromatogramme d'HPLC de la solution essai d'Augmentin sachet 1g/125mg
.....p56

Tableau N° 14 : la variation de la teneur en amoxicilline et la teneur en clavulanate..... p57

Tableau N° 15 : la variation de la teneur en amoxicilline et la teneur en clavulanate.....p58

Tableau N° 16 : La masse moyenne des sachets d'Augmentin 1g/125mg.....p59

Tableau N° 17 : La masse individuelle des 20 Sachets remplis et vides du lot 607051.....p60-61

Tableau 18: Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation) conditions réelles.....p61-62

Tableau N°19 : Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation). Conditions accélérées.....p62-63

Tableau 20 : Résultats des tests microbiologiques.....p63

Tableau N°21 : la variation de la teneur en amoxicilline et la teneur en clavulanate. Conditions réelles..... p63

Tableau N°22 : la teneur en principes actifs (amoxicilline et l'acide clavulanique) les Conditions accélérées..... p65-66

Tableau N°23 : Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation) dans les conditions réelles.....p67

Tableau N°24 : Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation) dans les conditions accélérés.....p69-70

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction générale p1-2-3

CHAPITRE I : Généralités sur les médicaments

1. Notions sur les médicaments.....	4
1.1. La composition du médicament	4
1.2. Les différents types de médicaments	5
1.3. Dénomination du médicament	6
1.3.1. Nom chimique	6
1.3.2. Dénomination Internationale Commune (DCI).....	6
1.3.3. Nom commercial	6
1.4. Cycle de vie d'un médicament.....	6
1.5. Les principales voies d'administration des médicaments.....	7
1.6. La fabrication d'un médicament.....	10
2. Les antibiotiques	16
2.1. Définition des antibiotiques	17
2.2. Les grandes familles des antibiotiques	17

CHAPITRE II : Etude de stabilité

Introduction.....	20
1. Définition de la stabilité.....	20
1.1. L'Objectifs des études de stabilité	20
1.2. Types d'études de stabilité.....	21
1.2.1. Stabilité des lots de validation	21
1.2.2. Stabilité des lots de routine (on Goring).....	21
2. Validation des procédés	22
3. Méthodes d'étude de stabilité d'un médicament.....	23
3.1. Etude de stabilité en temps réel.....	23
3.2. Etude de stabilité en temps accéléré	24
4. Principales causes d'altération des médicaments	24
5. Etat de l'art sur les études de stabilité, de l'antibiotique « <i>Amoxicilline</i> /	25

<i>Acide clavulanique</i> »	25
Conclusion.....	27

CHAPITRE III : Matériels et Méthodes

Introduction :.....	28
1. Présentation du site GlaxoSmithKline « GSK »	28
2. L'antibiotique Augmentin®	29
2.1. Les formes disponibles d'Augmentin®	30
3. Plan d'échantillonnage du produit fini Augmentin sachet :.....	32
4. Le contrôle d'Augmentin® sachet 1g/125mg et 500mg/62.5mg	35
4.1. Contrôle physico-chimique :.....	36
5. Contrôle microbiologique :	49
6. Méthodologie du contrôle d' Augmentin® sachet 1g/125mg Adulte et 500mg/62.5mg Enfant	51
Conclusion.....	54

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

Introduction.....	55
1. Résultats de l'étude de stabilité du lot de validation n°607052 d'Augmentin sachet 1g/125mg Adulte (Augmentation du poids du lot)	55
1.1. Résultats du contrôle physico-chimiques	55
1.1.1. Résultat du contrôle du Caractère	55
1.1.2. Résultat d'identification des principes actifs réalisé par HPLC	55
1.1.3. Résultat du Dosage des Principes Actifs (Amoxicilline et l'Acide clavulanique en conditions réelles.....	57
1.1.4. Résultat de Dosage du Principe Actif (Amoxicilline et l'Acide clavulanique en conditions accélérées.....	58
1.1.5. Aspect de la suspension	59
1.1.6. Uniformité de masse	59
1.1.7. Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, KF et les produits de dégradation) du lot de validation 607052 d'Augmentin® sachet 1g/125mg dans les conditions réelles.....	60

1.1.8. Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, KF et les produits de dégradation) du lot de validation 607052 d'Augmentin sachet 1g/125mg dans les Conditions Accélérées.....	61
1.2. Résultats des Tests microbiologiques	62
2. Résultats de l'étude de la stabilité pour la validation d'Augmentin ® sachet dose 500mg/62.5mg enfant (nouvelle dose).....	63
2.1. Résultat du dosage des Principes Actifs (Amoxicilline et l'Acide clavulanique) des lots 808001-808002-808004 d'Augmentin ® d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles.....	63
2.2. Résultat du dosage des Principes Actifs (Amoxicilline et l'Acide clavulanique) des lots 808001-808002-808004 d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les conditions accélérées.	65
2.3. Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation) des lots 808001-808002-808004 d' Augmentin ® sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles	67
2.4. Résultat du dosage des Principes Actifs (Amoxicilline et l'Acide clavulanique) des lots 808001-808002-808004 d' Augmentin ® sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles.	69
Conclusion.....	72
Conclusion générale	73

Introduction générale

L'industrie pharmaceutique est dans le monde entier, un élément important des systèmes de santé. Elle comprend de nombreux services et entreprises, publiques ou privés, qui découvrent, mettent au point, fabriquent et commercialisent des médicaments au service de la santé humaine et animale [1]. Les produits pharmaceutiques comprennent les médicaments, les réactifs biologiques, les produits chimiques officinaux, les produits galéniques et tous les autres produits nécessaires à la médecine humaine et vétérinaire [2].

Les laboratoires pharmaceutiques doivent fabriquer des produits pharmaceutiques qui répondent à des exigences de qualité, d'innocuité et d'efficacité. Il s'agit de garantir la réponse à des exigences tout au long de la durée de validité du produit, dans les conditions de stockage et d'utilisation définies par des normes ou référentiels [3].

A fin d'assurer un haut niveau de la protection de la santé publique, l'ordonnance du 23 septembre 1967 a mis en place l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), délivrée par l'Agence européenne d'évaluation des médicaments (EMA) [4].

Un médicament ne peut être commercialisé si le fabricant n'a pas obtenue une autorisation de mise sur le marché (AMM). Cette dernière a pour objectif de protéger le consommateur contre les dangers que peut engendrer la consommation de produits pharmaceutiques.

Le fabricant doit démontrer qu'il a vérifié l'innocuité du produit dans des conditions normales d'emploi, son efficacité thérapeutique et son analyse quantitative et qualitative [4].

Avant d'utiliser ces médicaments, certaines études devraient être menées pour assurer la sécurité du consommateur et s'assurer que d'une part, ces médicaments sont utilisables telque l'étude de leur effet sur l'organisme et d'autre part l'étude de stabilité des médicaments. Cette dernière est l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans des limites spécifiées pendant toute sa durée de validité [5].

La consommation mondiale d'antibiotiques a augmenté de 65% entre 2000 et 2015, elle est passée de 21,1 milliards de doses quotidiennes déterminées en 2000 à 34,8 milliards en 2015 dans 76 pays dans le monde [6].

Les importations de l'Algérie en produits pharmaceutiques se sont chiffrées à près de 2,6 milliards de dollars en 2014, contre 2,34 milliards en 2013 selon les Douanes algériennes. D'autre part l'Algérie a été citée parmi les tops 5 des pays dans le monde où le taux de consommation d'antibiotiques a été le plus élevé en 2015, cette augmentation entraînera une forte résistance des bactéries à ces antibiotiques, chose qui a causé la mort de 700.000 personnes dans le monde [6].

Introduction Générale

Pour réduire les factures des produits pharmaceutiques importés, le gouvernement algérien s'est engagé à encourager la production nationale et œuvre à faciliter l'acte d'investir dans ce créneau industriel afin de stimuler la production [7].

L'étude de stabilité des antibiotiques, notamment des bêtalactamines, à une importance capitale suite à l'apparition d'éventuels impuretés toxiques ou un sous-dosage en principe actif qui peut déclencher le phénomène de résistance des bactéries [8]. Notant qu'aussi que Chaque changement pendant le processus de fabrication du médicament nécessite une étude de stabilité pour valider le produit.

C'est dans cette optique que l'entreprise GSK Boudouaou (Glaxo Smith Kline) a amélioré le taux de production des antibiotiques par l'augmentation de la taille du lot d'Augmentin[®] sachet 1g/125mg adulte, ainsi qu'élargir sa gamme par une nouvelle dose Augmentin[®] sachet 500mg/62.5mg destinée au enfant.

Lors du dépôt d'un dossier d'AMM, d'un principe actif (PA) ou d'un produit fini (dans notre cas l'Augmentin[®]), il est possible de le soumettre avec un minimum de 12 mois d'étude de stabilité, tout en demandant une période de re-contrôle de 24 mois concernant le dossier du principe actif (PA). Cette même étude est aussi utilisée pour la détermination de la date de péremption d'un produit fini. C'est dans ce contexte que nous nous sommes posées les questions suivantes :

Comment étudier la stabilité d'un antibiotique dans le cas d'une nouvelle dose pour l'obtention d'AMM ainsi que le cas d'un changement dans le processus de fabrication d'un produit déjà commercialisé ? et

Est ce qu'une étude statistique est nécessaire pour suivre les tendances de la stabilité de l'antibiotique Augmentin[®] sachet ?

Pour répondre à cette problématique, nous avons eu comme objectif, au sein des laboratoires (microbiologique et physico-chimique) de l'industrie pharmaceutique GSK Boudouaou, de tester et suivre les tendances de stabilité d'un produit fini « Augmentin[®] sachet » dans les conditions accélérés et réelles avec des analyses et des essais microbiologiques et physico-chimiques.

Nous avons étudié la stabilité d'un lot de validation, d'Augmentin[®] sachet (1g/125mg) mis en stabilité à cause de l'augmentation du poids du lot fabriqué; Ainsi que la validation de trois lots d'une nouvelle dose d'Augmentin[®] sachet (500mg/62.5mg) dans le but d'effectuer une demande d'autorisation de mise sur le marché Algérien (AMM), dans les deux conditions réelles et accélérer en zone II.

Nous avons synthétisé notre travail dans les quatre chapitres suivants:

Introduction Générale

- Le premier chapitre présente notre recherche bibliographique dans le domaine de l'industrie pharmaceutique (des généralités sur les médicaments et les antibiotiques)
- Le deuxième chapitre est dédié à l'étude de stabilité des médicaments où nous avons réalisé un état de l'art sur les études de stabilité de l'antibiotique, « Amoxicilline /Acide clavulanique »
- Le troisième chapitre, présente le matériel et la méthodologie de travail pour l'étude de stabilité de l'antibiotique Augmentin[®] (sachet 1g/125mg) adulte et (500mg/62.5mg) enfant.
- Le quatrième chapitre est réservé à la présentation et traitement des résultats qui sera couronné par une discussion générale.

Enfin nous avons finalisé nos travaux par une conclusion générale.

Introduction

Un médicament est un produit préparé et présenté pour guérir ou prévenir les maladies ou administré en vue d'établir un diagnostic ou administré pour restaurer, corriger ou modifier les fonctions organiques de l'homme ou de l'animal [5].

Lorsque notre corps est débordé par l'attaque de bactéries, l'organisme ne peut pas toujours se défendre seul, il a besoin d'aide. Les antibiotiques sont donc parfois nécessaires pour éliminer les bactéries ou empêcher leur prolifération et renforcer les défenses du corps [9].

Dans ce chapitre on va aborder des généralités sur les médicaments et les antibiotiques.

1. Notions sur les médicaments

Un médicament est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales [10].

1.1. La composition du médicament

On distingue dans un médicament le principe actif (P.A.), qui est la molécule support de l'activité pharmacologique, et les excipients, qui permettent de mettre en forme le médicament : [11]

➤ Principe actif (substance active)

Tout composant d'un médicament qui est destiné à exercer une action pharmacologique ou un autre effet direct en rapport avec le diagnostic, le traitement ou la prévention d'une maladie, ou à agir sur la structure ou les fonctions de l'organisme humain ou animal par des moyens pharmacologique. Un médicament peut contenir plusieurs principes actifs [12].

Il existe deux catégories de principes actifs :

- les substances obtenues par synthèse dont les caractéristiques chimiques sont bien définies
- les substances extraites à partir du produit naturel : végétal, minéral, biologique [5].

➤ Excipient

Tout composant, autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur (véhicule ou base) au(x) principe(s) actif(s), ou d'entrer dans la composition du vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés du produit telles que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient, la facilité de fabrication. la formulation d'un médicament comprend généralement plusieurs [12].

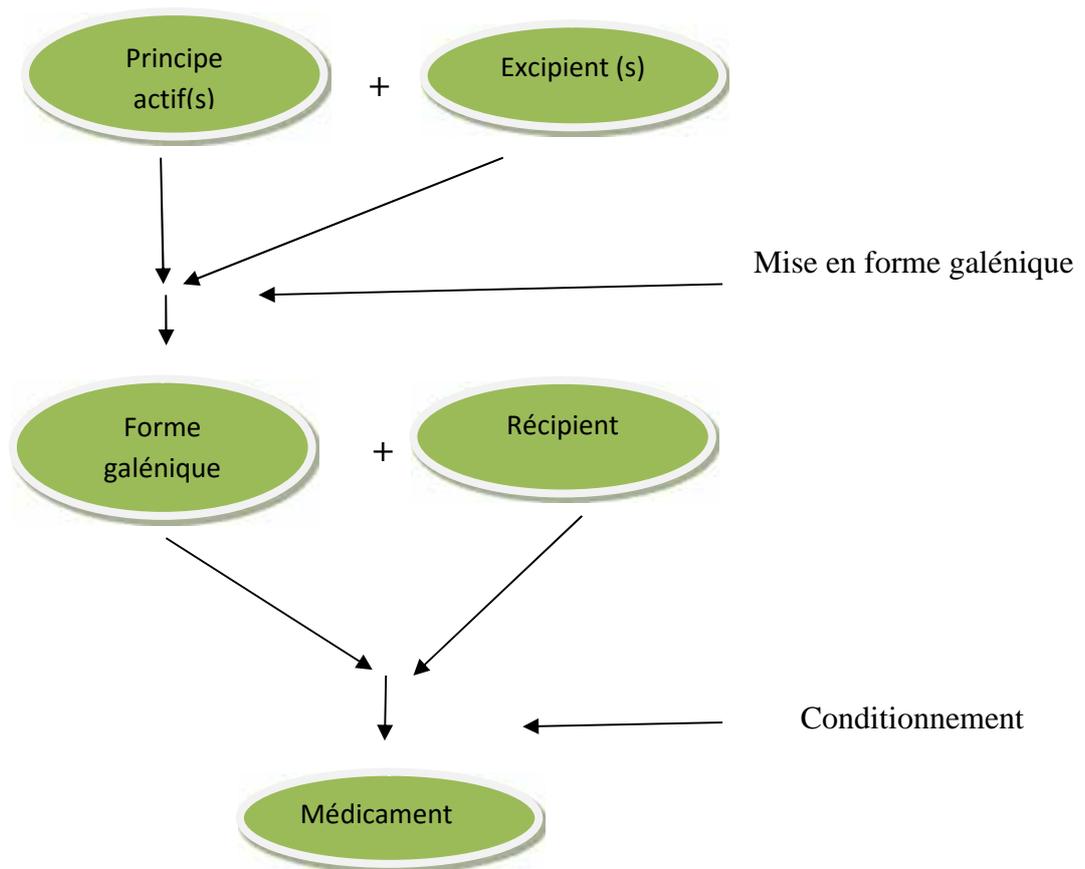


Figure n°1 : La mise en forme d'un médicament [9]

1.2. Les différents types de médicaments

➤ Médicaments d'origines (princeps)

Un médicament princeps peut être défini comme un médicament original dont la production et la commercialisation ne sont permises qu'au détenteur du brevet de la substance active contenue dans le médicament, et ce pendant une durée de 20 ans en général. Ce médicament doit nécessairement faire l'objet d'essais cliniques avant l'obtention de l'AMM [13].

➤ Médicament générique

Un produit pharmaceutique générique est considéré comme essentiellement similaire au produit pharmaceutique original, qui a la même composition qualitative et quantitative en principe(s) actif(s), il est présenté sous la même forme pharmaceutique et que, lorsque nécessaire, la bioéquivalence avec le premier produit a été démontré par des études appropriées de biodisponibilité [14].

1.3. Dénomination du médicament

Un médicament a un nom chimique, une dénomination internationale commune (DCI) et un nom commercial:

1.3.1. Nom chimique

Le nom chimique ou le nom scientifique correspond à la formule chimique du principe actif.

1.3.2. Dénomination Internationale Commune (DCI)

La DCI ou le nom générique est attribué par l'OMS. Cette dénomination est composée à partir de segments-clés qui renseignent notamment sur l'origine et le mode d'action pharmacologique du produit, qui rappelle leur formule et présente un suffixe commun pour les produits apparentés.

1.3.3. Nom commercial

Qualifié aussi de marque pharmaceutique choisie par le laboratoire producteur du médicament. Cette appellation est généralement courte et facile à mémoriser, mais à la différence de la DCI, il pourra différer d'un pays à l'autre [15] [16].

1.4. Cycle de vie d'un médicament

Globalement, le cycle de vie d'un médicament princeps peut être représenté par trois grandes étapes.

➤ Conception

Elle a lieu au sein du laboratoire de recherche et développement en étroite collaboration avec les laboratoires de contrôle, c'est la phase où se font les choix concernant la forme galénique, la voie d'administration, les excipients, les matériaux de conditionnement, le procédé de fabrication...etc. Elle aboutit à la réalisation d'un lot « prototype » ; appelé lot pilote, dont les unités serviront aux essais cliniques.

➤ Autorisation de Mise sur le Marché

Une fois les essais cliniques concluants, le produit est candidat à la mise sur le marché, pour cela, le fabricant dépose auprès de l'autorité compétente, un dossier comportant quatre parties :

- Pharmaceutique (galénique et analytique) ;
- Toxicologique ;
- Pharmacologique ;
- Clinique.

Ce dossier est minutieusement examiné et évalué par l'autorité réglementaire du pays, et avec l'avis d'experts, la demande d'autorisation peut être acceptée ou refusée.

➤ **Fabrication**

Dans le cas de l'acceptation de la demande d'AMM, le produit initialement conçu à l'échelle du laboratoire, passe à la fabrication à l'échelle industrielle. Des lots, de tailles plus importantes, seront ensuite produits, en respectant rigoureusement les informations contenues dans le dossier d'AMM, et mis à disposition des patients, une fois que leur qualité ait été jugée satisfaisante [17].

1.5. Les principales voies d'administration des médicaments

Il existe plusieurs voies d'administration du médicament qui présentent toutes des avantages et des inconvénients. Mais selon la voie utilisée, les principes actifs n'ont pas le même devenir dans l'organisme et subissent des modifications métaboliques plus ou moins importantes ce qui peut altérer leur activité pharmacologique, surtout en ce qui concerne le début, l'intensité et la durée de leur action [18].

Une fois administré par la voie correspondante, le principe actif contenu dans le médicament est libéré et va se dissoudre dans les liquides de l'organisme. Il pourra alors être absorbé et traverser dans les membranes de l'organisme afin d'atteindre le sang, plus exactement la phase aqueuse ultra-filtrable du sang [12].

Tableau n°1 : Voies et formes d'administration des médicaments [18]

Voie orale	Solide : -Comprimés -Gélules - Poudres
	Liquide : -Sirops -Ampoules -Suspensions et solutions buvables -Huile
voie parentérale	Solutions et suspensions injectables : -en ampoules -en flacons
Voie rectale	Suppositoires Capsules rectales Pommades rectales Lavements

Voie vaginale	Ovules Capsules vaginales Comprimés vaginaux Solutés Crèmes et gelées vaginales
Voie ophtalmique	Collyres Pommades ophtalmiques Bain oculaire Solutés d'irrigation
Voie ORL	Bain de bouche Collutoires Pommades Aérosols Gouttes nasales
Voie respiratoire	Inhalations Aérosols
Voie cutanée	Pommades Crèmes Lotions Liniments
Voie transdermique	Patchs transdermiques

➤ La voie orale

Appelée anciennement voie buccale, elle consiste en l'administration du médicament par la bouche, médicament que le malade avale par un mouvement spécial de la langue. Empruntant l'œsophage, le médicament est conduit dans l'estomac où il va demeurer tant qu'un mouvement péristaltique spécial ne lui permettra pas de franchir le pylore. Ensuite, il ira jusqu'à l'intestin grêle où se situent les zones d'absorption de la plus grande partie des principes actifs utilisés en thérapeutique

- **Avantages**

- Administration aisée et doses élevées en une seule prise

- **Inconvénients**

- Risque d'altération des principes actifs par les sécrétions du tube digestif, de PH devers de (PH1.5 à7.5).

- Problème de la flaveur des médicaments (gout et odeur).

Les formes galéniques administrées par cette vois sont :

-Soit des formes solides : les poudres, les paquets, les sachets, les cachets, les capsules et les gélules, les pilules....

-Soit des formes liquides : les solutions, les limonades, les tisanes, les sirops, les suspensions [19].

➤ La voie parentérale

On utilise le terme parentéral pour désigner l'administration qui consiste à faire pénétre le médicament, par effraction, à travers la peau.

- **Avantages**

-Il possible en cas d'urgence, d'administrer le médicament, directement au lieu d'action désiré comme le cas d'une intracardiaque.

- **Inconvénients**

-Douleur à l'endroit de l'injection, provoquée par le produit administré ou par l'aiguille.

-Difficulté de répéter les injections à certains endroits, le nombre de points d'injection étant limité [14].

➤ La voie cutanée

Les médicaments sont placés sur la peau et sont destinés à exercer, soit une action local (par exemple : protection de la peau), soit une action générale après pénétration, sans effraction, à travers les déférents couches cellulaires constituant la barrière cutané.

- **Avantages**

Les médicaments sont appliqués, directement à l'endroit ou ils doivent agir en cas d'action local, ou dans une zone que les principes actifs traverser facilement.

- **Inconvénients**

Il faut noter que la peau saine présente une perméabilité sélective mais que si elle est malade ou lésée, sa perméabilité est fortement augmentée et certaines substances incapables de la traverser normalement sont absorbées et provoquent des réactions secondaires [19].

Tableau 2 : Les principales formes galéniques. [20]

Les solides Comprimés, Gélules, Poudres	
---	--

<p>Les liquides Sirops, Suspensions, Emulsions</p>	
<p>Les semi-solides Pommades, Crèmes, Gels</p>	
<p>Les volatils Aérosols</p>	

1.6. La fabrication d'un médicament

La production médicamenteuse regroupe l'ensemble des opérations de transformation des matières premières en produits finis. Elle répond à des normes de qualité nationales et internationales très strictes, et garantit le respect de l'hygiène, de l'environnement et de la sécurité [21].

Tous les établissements fabriquant des produits pharmaceutiques doivent respecter et appliquer les bonnes pratiques de fabrications (BPF). Ces dernières sont destinées à assurer la qualité des médicaments selon les normes exigées par l'AMM. Elles concernent les locaux, le matériel de fabrication, le personnel et les conditions de fabrication à tous les stades [21].

(Voir figures n°2 et 3)

➤ Les ingrédients de base

A ce moment, tous les composants du médicament sont encore à l'état pur, ce sont les matières premières. Parmi elles, on trouve :

-Les substances actives : l'ensemble des composants du médicament qui possèdent un effet thérapeutique.

-Excipients : diluant inerte (eau, huile, miel, sirop...) des principes actifs d'un médicament.

➤ Pesée et mélange

-Les composants du médicament sont pesés, c'est-à-dire que l'on dose la quantité qui sera présente dans le médicament. La précision de ce dosage a une importance plus ou moins grande en fonction du produit néanmoins il est important de les respecter le plus possible.

-une fois pesées, les substances sont mélangées.

➤ **Procèdes de fabrication**

-Séchage.

-Compression.

-Enrobage et dragéification : cette étape a lieu uniquement pour les gélules.

A la fin de cette étape, le médicament a sa forme définitive.

➤ **Conditionnement primaire**

Le conditionnement primaire est le début de la préparation du médicament à sa sortie de l'usine.

C'est une série d'opérations comme la mise en sachet pour la poudre ou en pilulier pour les pilules.

Tout cela est fait sous une atmosphère contrôlée par une centrale de traitement d'air afin que les médicaments soient au final dans un environnement saint.

➤ **Conditionnement secondaire**

C'est la dernière grande étape, le médicament désormais contenu dans des sachets,, des piluliers, des plaquettes...Est mise en boîte, les notices sont imprimées et mises avec.

Tout cela se fait à la chaine la longe d'un tapis roulant et à la fin de ce tapis, les médicaments sont mis en palettes puis stockés dans un dépôt [22].

2. Assurance de la qualité

Assurance de la qualité Somme des activités et des responsabilités destinées à assurer que les médicaments qui parviennent au patient sont sans danger, efficaces et acceptables [23].

L'assurance de la qualité c'est :

- Assurer la conformité et la qualité du produit
- Garantir l'homogénéité du lot
- Garantir la reproductibilité des fabrications
- Garantir l'historique et la traçabilité
- Assurer la sécurité du patient.

Garantir les conditions de fabrication des médicaments, depuis la réception des matières premières jusqu'à l'expédition des produits finis Selon la norme ISO 9000: l'assurance qualité (AQ) est la "Partie du management de la qualité visant à donner confiance en ce que les exigences pour la qualité seront satisfaites «Toutes activités ou actions ayant une possible influence sur la qualité du médicament doivent être englobées dans le concept d'AQ. C'est une discipline qui a pour but la prévention de la non-qualité plutôt que la détection. Elle permet également de repérer les dysfonctionnements occasionnels, de les corriger et d'éviter leur répétition. En prévenant une non-qualité et en corrigeant les dysfonctionnements décelés, l'AQ vise à garantir la production d'un

produit de qualité grâce à la maîtrise de ses processus (actions et activités de l'entreprise). C'est à dire que pour avoir un produit de qualité, il faut maîtriser tous les domaines, de la conception au développement à l'achat de packaging, de matière, mais également l'organisation, le savoir-faire, le matériel et les compétences nécessaires à l'activité [24].

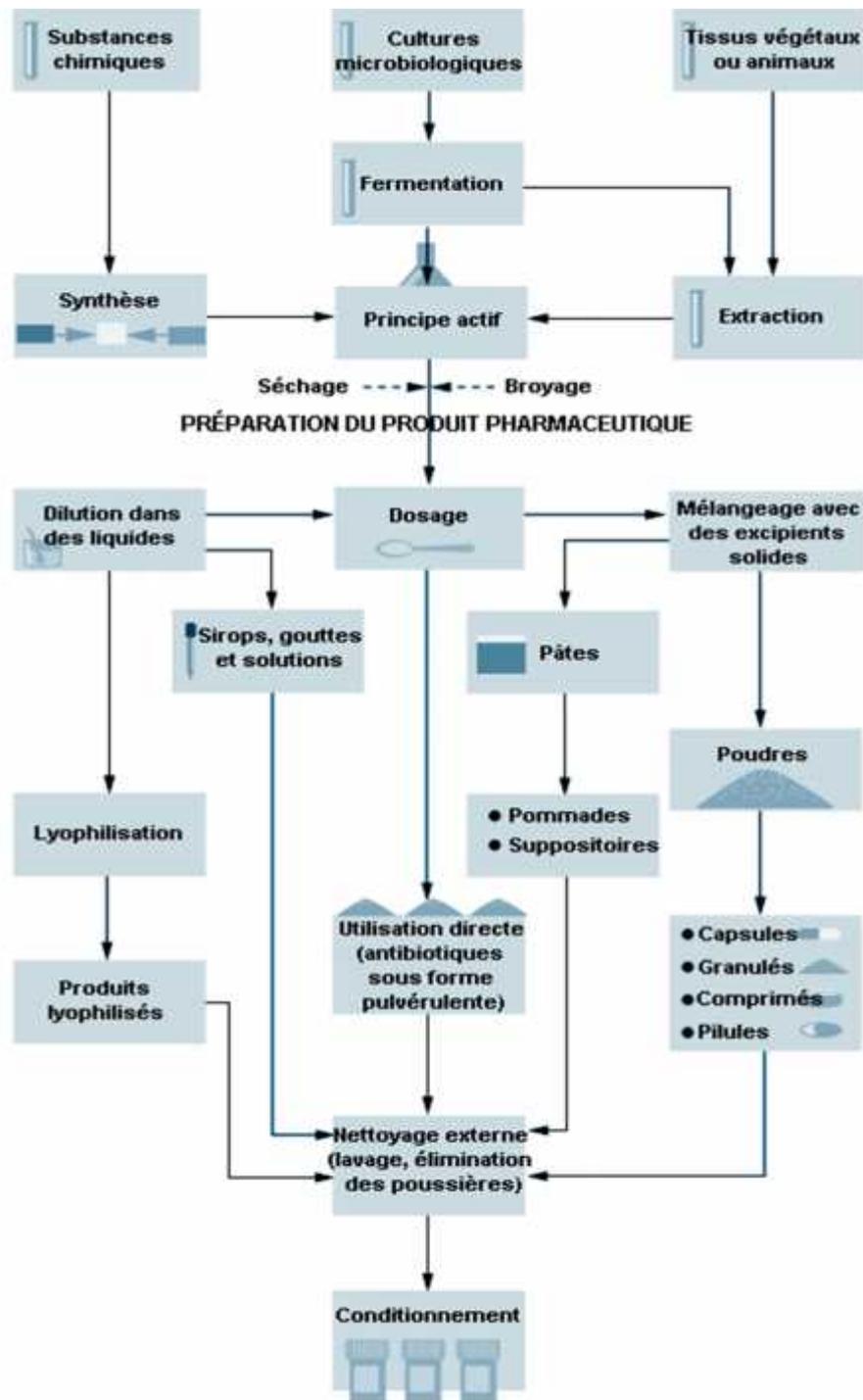


Figure n°2 : Schéma de fabrication d'une présentation médicamenteuse [1]

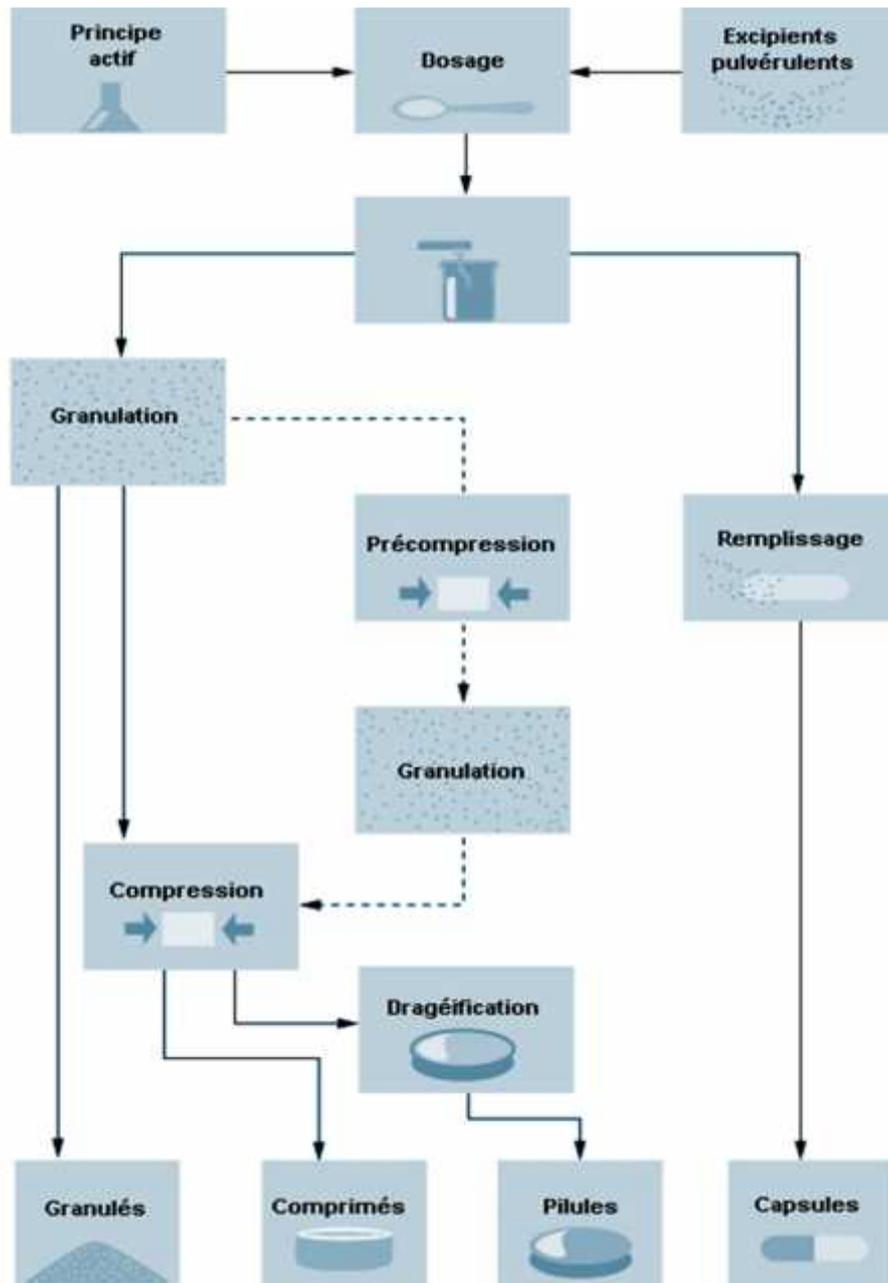


Figure n°3 : Schéma de fabrication de présentations pharmaceutiques solides. [1]

3. Contrôle de la qualité

Le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication définit le contrôle de la qualité comme étant la vérification ou le contrôle de la conformité aux spécifications. L'Organisation Mondiale de la Santé le définit, de façon plus détaillée, comme étant toute mesure prise, incluant : mise au point de spécifications, échantillonnage, analyse, et traitement des données analytiques, afin de confirmer que les matières premières, les produits intermédiaires, les articles de conditionnement et le produit pharmaceutique final sont conformes aux spécifications établies d'identification, dosage, pureté et autres caractéristiques [25]

4. Les référentiels de l'industrie pharmaceutique

Les référentiels de l'industrie pharmaceutique regroupent un ensemble d'éléments formant un système de référence. Différents types de référentiels s'appliquent au secteur de la santé et plus particulièrement à l'industrie pharmaceutique. On distingue deux catégories de référentiels:

- ceux d'application obligatoire; ils découlent de textes de loi (les BPF, les Pharmacopées...)
- ceux d'application volontaire (normes ISO 9000...) [24].

➤ L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) est l'autorité directrice et coordinatrice pour la santé au sein des Nations Unies. Elle est responsable de fournir un leadership en matière de santé mondiale, de définir l'ordre du jour de la recherche en santé, de fixer des normes et standards, de présenter des options politiques fondées sur des preuves, en fournissant un appui technique aux pays et de suivre et évaluer les tendances de la santé

➤ International Conference on Harmonization (ICH)

International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use est un processus d'harmonisation des exigences réglementaires en matière de médicaments à usage humain. Il a pour objectif de développer des règles communes au niveau de trois régions dans le monde : l'Union Européenne, le Japon et les Etats-Unis d'Amérique. Ces règles peuvent aussi s'appliquer aux pays et organisations ayant rang d'observateurs comme les pays de l'Association Européenne de Libre Echange (l'Islande, le Liechtenstein, la Norvège, la Suisse et le Canada et l'Organisation Mondiale de la Santé.

Le moteur de cet effort d'harmonisation est la nécessité d'améliorer la disponibilité des produits pharmaceutiques et de répondre aux pressions du commerce international en offrant des règles techniques suffisamment complètes et uniformisées relatives à l'innocuité, à la qualité et à l'efficacité des médicaments. Le but recherché, en limitant les répétitions inutiles des étapes réglementaires, est d'accélérer les progrès thérapeutiques tout en réduisant les coûts de mise au point des médicaments. L'ICH regroupe aujourd'hui 17 pays à revenus élevés représentant 15 % de la population mondiale et 90 % du chiffre d'affaires annuel réalisé par l'industrie multinationale de la recherche pharmaceutique. A ce jour, l'ICH a publié plus de 45 directives qui précisent les conditions techniques à respecter pour des étapes spécifiques du processus d'homologation des médicaments [26].

➤ Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF)

Traduction de Good Manufacturing Practices (GMP) désignent un gage de qualité appliqué à la fabrication de médicaments à usage humain ou vétérinaire, elles sont définies comme « un des

éléments de l'assurance de la qualité, garantissant que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon uniforme et selon des normes de qualité adaptées à leur utilisation et spécifiées dans l'autorisation de mise sur le marché » [26].

➤ **Les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL)**

La loi sur les « bonnes pratiques de laboratoire », abrégées BPL, a été introduite en 1978, après la mise en évidence par la FDA (Food and Drug Administration américaine) de graves lacunes dans les études toxicologiques.

Les BPL ont été introduites dans le monde entier pour garantir la fiabilité et la reconnaissance internationale des données. L'accent a été mis sur la clarté, la traçabilité, la répartition des responsabilités et l'archivage.

Les BPL se définissent comme un ensemble de règles et de recommandations relatives aux essais non cliniques destinés à évaluer les propriétés et l'innocuité des médicaments à usage humain et s'imposant aux différentes activités des laboratoires de développement des produits pharmaceutiques, les produits cosmétiques, les produits de tatouage, les médicaments vétérinaires, les pesticides, les additifs pour l'alimentation humaine et animale et les autres produits chimiques [27].

➤ **L'Organisation Internationale de Normalisation (ISO)**

L'ISO est la plus grande organisation de normalisation au monde. C'est un réseau d'instituts nationaux de normalisation de 163 pays, selon le principe d'un membre par pays, dont le secrétariat central, situé à Genève en Suisse, assure la coordination d'ensemble. C'est aussi une organisation non gouvernementale qui jette un pont entre le secteur public et le secteur privé. Bon nombre de ses instituts membres font en effet partie de la structure gouvernementale de leur pays ou sont mandatés par leur gouvernement, et d'autres organismes membres sont issus exclusivement du secteur privé et ont été établis par des partenariats d'associations industrielles au niveau national. L'ISO jouit d'un statut consultatif auprès des nations unies, elle est en relation avec 400 autres organisations internationales qui sollicitent la collaboration de ses comités techniques pour les questions de normalisation figurant à leurs programmes [26].

➤ **Les Pharmacopées**

Une pharmacopée est définie comme une norme pharmaceutique destinée à assurer l'uniformité de la qualité. Selon l'article R-S001 du CSP, une Pharmacopée est un « recueil contenant la nomenclature des drogues, des médicaments simples et composés, des articles officinaux.

Elle indique les caractères des médicaments, les moyens qui permettent de les identifier, les méthodes d'essais et d'analyses à utiliser pour assurer leur contrôle, les procédés de préparation, de stérilisation, de conservation des dits médicaments ainsi que les règles de leur conditionnement,

leurs principales incompatibilités et un ensemble de données qui peuvent être utiles au pharmacien pour leur préparation et leur délivrance. » Ils existent plusieurs Pharmacopées avec entre autre:

- La Pharmacopée Française, Xème édition, peu utilisée par rapport à la Pharmacopée Européenne compte tenu des échanges au sein de la communauté européenne.
- La Pharmacopée Européenne : Publiée par le Service Européen de la Qualité du Médicament du Conseil de l'Europe de Strasbourg. C'est la Pharmacopée Européenne 4ème édition (2002) qui est actuellement applicable à l'ensemble des addendum de l'année en vigueur [28].

5. Autorisation de mise sur le marché AMM

Toute démarche de mise au point d'un médicament à usage humain en vue d'une commercialisation aboutit à un certain moment à la présentation optimale du principe actif confié au galéniste, c'est-à-dire, la forme la mieux adaptée technologiquement et économiquement à l'usage auquel elle est destinée. Cet aboutissement caractérise la fin de la période de conception, débouchant à la constitution du dossier d'AMM et plus précisément pour le galéniste en collaboration avec l'analyste, à la rédaction du dossier technique.

L'objectif de ce dossier est de décrire de façon, aussi précise et indiscutable que possible, le médicament qui fait objet de la demande d'AMM. Celui-ci est défini à la fois par les conditions de fabrication, par les contrôles effectués sur les matières premières, en cours de fabrication et sur le produit fini [29].

6. Les antibiotiques

-La découverte des antibiotiques a ouvert une voie nouvelle dans la lutte contre de nombreuses maladies déclarées qui étaient considérées comme incurables auparavant et a été un formidable succès médical [28].

Le tout premier antibactérien a été une substance de synthèse, un sulfamide qui a permis, en 1932, de traiter certaines infections.

Les inconvénients de cette classe de médicaments résident dans les effets secondaires fréquents et graves (toxicité, allergie, action sur la moelle osseuse, etc.) et une activité limitée à quelques bactéries [28].

Mais le première véritable antibiotique est la pénicilline qui avait été identifiée dès la fin du XIXe siècle, par Ernest Duchesne. C'est par hasard que ses propriétés furent redécouvertes, en 1928, par Sir Alexander Fleming qui avait remarqué l'effet inhibiteur d'un champignon microscopique (*Penicillium notatum*) sur certaines cultures bactériennes en boîtes de pétri [28].

La découverte de la pénicilline, puis sa purification et son utilisation au début des années 1940, a été le véritable début de l'ère des antibiotiques et surtout de l'antibiothérapie [28].

6.1. Définition des antibiotiques

Selon la pharmacopée européenne ; sixième édition

On a appelé antibiotique toute substance chimique pouvant inhiber la croissance ou détruire les bactéries et d'autres micro-organismes. Cette définition est aujourd'hui trop restrictive et doit être abandonnée car les molécules obtenues par synthèse ou par modification chimique d'une molécule naturelle peuvent être douées des mêmes propriétés [30].

Un antibiotique est actuellement défini comme toute substance d'origine biologique ou synthétique agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries (Agent antibactérien) ou des champignons, et pouvant être administré à l'organisme [30].

6.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. **Voir la figure n°4**

Ils agissent par :

Toxicité sélective au niveau de la :

- Synthèse de la paroi bactérienne
- Membrane cytoplasmique
- Synthèse des protéines
- Acides nucléiques

Inhibition compétitive :

Dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie [5].

6.3. Les grandes familles des antibiotiques

Les antibiotiques sont regroupés en plusieurs familles selon leur mode d'action :

Tableau n°3 : Les grandes familles des antibiotiques [9].

Pénicilline	Cépharines	Aminosides	Tétracyclins	Sulfamides	Lincosans
Amoxicilline	Céfaclor	Gentamicine	Doxycycline	Sulfacétamide	Clindaine
Ampicilline	Céfalexine	Néomicine	Tétracycline	Sulfaméthoxazole	
Benzylpénicilline (peni G)	Céfazoline	Nénilmicine			
Bloxacilline	Céfazoline	Tobramicine			
Phénoxy méthyle (Pénicilline V)					

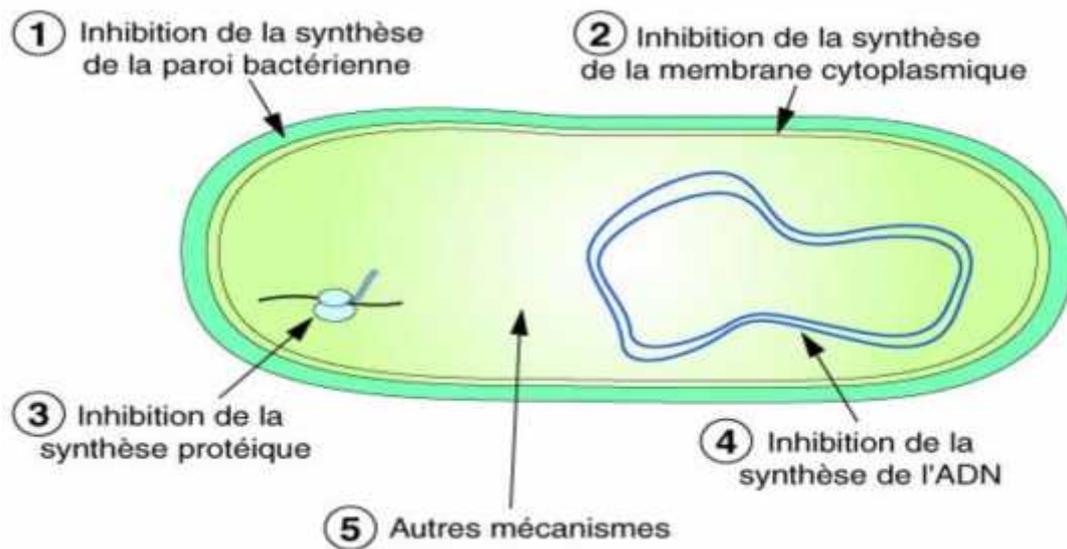


Figure n°4: Mode d'action des antibiotiques [31]

6.4. Historique d'Amoxicilline

Elle peut porter d'autres noms : Amoxil, Polymox, Trimox, Wymox [32]

L'amoxicilline est un antibiotique dérivé de la pénicilline utilisé contre les bactéries.

IL permet de traiter plusieurs types d'infections causées par des bactéries, telles que l'amygdalite, la bronchite, la pneumonie, la gonorrhée et les infections des oreilles, du nez, de la gorge, de la peau et les infections urinaires [32].

Amoxicilline fût découverte par des scientifiques de Beecham Research Laboratories en 1972.

Le spectre actif antimicrobien étroit des pénicillines, a conduit à la recherche de dérivés de la pénicilline pour traiter une plus large gamme d'infections. La première étape importante fût le développement de l'ampicilline. L'Ampicilline a un spectre d'activité plus large que l'une des pénicillines originales et a permis aux médecins de traiter une gamme plus large d'infections de bactéries Gram-positives et Gram-négatives [32].

La principale différence entre l'ampicilline et l'amoxicilline est leur solubilité dans les lipides.

L'amoxicilline, légèrement plus soluble, peut tuer plus rapidement les bactéries.

L'Amoxicilline agit en inhibant la synthèse des parois cellulaires bactériennes.

Elle inhibe la réticulation d'un composant majeur des parois cellulaires des bactéries Gram-positives et Gram-négatives - les chaînes linéaires de polymère peptidoglycane [32].

Conclusion

D'après le chapitre I on peut conclure qu'un médicament n'est pas un simple mélange d'ingrédients chimiques, c'est un équilibre très complexe avec de très nombreuses possibilités d'interaction, il nécessite l'utilisation d'un système d'assurance qualité d'un bout à l'autre de la chaîne pharmaceutique depuis son développement fabrication, son contrôle, sa distribution, jusqu'à son usage rationnel et sa péremption.

Ce dernier contient une seule ou plusieurs substance(s) active(s) responsable de l'effet thérapeutique et autres substances dites excipients.

Avant toute autorisation de la mise sur le marché (AMM), tous les médicaments qu'ils soient humains ou vétérinaires sont obligatoirement soumis à des études de stabilité. C'est ce dernier point que nous allons traiter dans le chapitre suivant.

Introduction

L'étude de stabilité est une étape clef dans l'industrie pharmaceutique pour l'obtention et la maintenance du dossier d'autorisation de mise sur le marché AMM. Elle est une des garanties de la qualité des médicaments et de la sécurité de son emploi.

Les tests de stabilité sont réalisés à différentes étapes du cycle de vie du médicament, les laboratoires sont amenés à contrôler la stabilité de ces produits sur un certain nombre de lots conservés par le fabricant [33].

Les essais de stabilité ont pour but de fournir des données probantes sur la façon à laquelle, la qualité d'un principe actif ou d'un produit médicamenteux varie, dans des conditions particulières, en fonction du temps sous l'effet de divers facteurs environnementaux, permettant ainsi de définir les conditions de conservation, et de déterminer la durée de validité des produits [27].

1. Définition de la stabilité

La stabilité est un indice qualitatif de corps médicamenteux et son étude s'effectue à la base des mécanismes des processus physiques et chimiques qui se déroulent pendant une longue durée de conservation des médicaments, soit en se basant sur la quantité du principe actif et des produits de décomposition dans un temps déterminé [34].

Selon l'ICH: la stabilité est l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, propriétés physiques, propriétés microbiologiques dans des limites spécifiées, pendant toute sa durée de validité [35].

1.1. L'Objectifs des études de stabilité

Les essais de stabilité ont pour but de fournir des données probantes sur la façon dont la qualité d'un principe actif ou un produit médicamenteux varie en fonction du temps sous l'effet de divers facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité et la lumière, permettant ainsi de définir les conditions de conservation et de déterminer la durée de la validité des produits [34].

➤ Sur le produit fini

Les études de stabilité ont pour bute d'assurer la qualité du produit fini par :

- L'identification des produits de dégradation provenant de l'interaction des différents composants de la formule.
- L'établissement de la cinétique d'apparition de ces produits de dégradation.
- La mise en place des techniques analytiques capable d'identifier et de quantifier les produits de dégradation.
- La détermination de la durée de validité du produit et la définition des conditions de conservation pendant le stockage et en cour d'utilisation [5].

1.2. Types d'études de stabilité

Il existe quatre types de stabilité chaque type dispos de plusieurs caractéristiques spécifiques:

1.2.1. Stabilité des lots de validation

Sur 03 lots successifs 01V, 02V, 03V avec (V : Validation) pour chaque nouveau produit

Pour l'enregistrement des produits et l'accord de mise sur le marché

Les fréquences sont :

- Temps Accéléré 3, Temps Accéléré 6 ;
- Temps Réel 3, Temps Réel 6, Temps Réel 9, Temps Réel 12, Temps Réel 18, Temps Réel 24 et Temps de péremption Temps Réel

1.2.2. Stabilité des lots de routine (on Goring)

Elle se fait selon les paramètres suivants :

- Au moins un lot par ans ou plus selon la demande par le service assurance qualité.
- Les lots choisis doivent être différents des lots d'études de la stabilité de type validation.
- Respecter les lois de partenaire.
- Si la notice mentionne que la conservation du médicament après conditionnement secondaire doit se faire dans une température de 25C° alors l'étude de stabilité S'effectuera dans la zone 2 avec (H=60C°±5) (T=25C°±2) avec (H : Humidité, T : Température) dans les enceintes climatiques.

1.2.3. Stabilité holding time

Se fait sur les produits intermédiaire ou semi-fini pour garantir l'intégrité du mélange ces produits doivent être inclus dans le programme de stabilité, lorsqu'ils sont stockés ou transportés d'un site à un autre avant de subir le reste des étapes de fabrication afin d'évaluer l'impact de leur conditionnement sur la stabilité du produit, les conditions sont les même pour la fabrication et les fréquences sont selon le service demandeur.

1.2.4. Stabilité en cas d'investigation/retraitement

Se fait selon le service demandeur, le service réglementaire ou l'assurance qualité, les conditions sont les même pour la fabrication et les fréquences sont selon le service demandeur [36].

Dans notre travail expérimental nous allons nous intéresser à réaliser des études de stabilité sur des lots de validation.

❖ Les types de stabilité selon USP

L'United States Pharmacopea (USP) définit la stabilité d'un produit comme étant son aptitude à conserver, dans les limites fixées et durant toute la période de stockage et d'utilisation, les propriétés et les caractéristiques qu'il possédait au moment de sa fabrication. Le texte distingue cinq types de stabilité : [34]

- **Stabilité chimique** : chaque principe actif conserve son intégrité chimique et sa teneur déclarée
- **Stabilité physique** : maintien des propriétés physiques initiales, telle que l'aspect, goût, uniformité, dissolution et pouvoir de remise en suspension.
- **Stabilité microbiologique** : la stérilité ou la résistance au développement microbien est maintenue et les agents antimicrobiens éventuellement présents conservent leur efficacité dans les limites prescrites.
- **Stabilité Thérapeutique** : efficacité thérapeutique demeure inchangée.
- **Stabilité toxicologique** : aucune hausse notable de la toxicité n'est tolérée [34].

Un médicament devient instable dans les cas suivant :

- ✓ Perte en PA >5%,
- ✓ Produits de dégradation > limites spécifiées,
- ✓ Changement des caractères organoleptiques,
- ✓ Changement du pH
- ✓ Test de dissolution non conforme
- ✓ Altération de la qualité microbiologique [37].

Les études de stabilité sont exigées dans les cas suivants :

En amont de la commercialisation

Lors de la mise en point d'un nouveau médicament.

En aval de la commercialisation

- changement de site de fabrication ;
- changement notable dans la formule ou le procédé de fabrication ;
- changement du conditionnement primaire du départ ;
- suivi permanent du médicament : dans une pharmacothèque qui permet de conserver tous les témoins de tous les lots fabriqués elle répond au besoin :
 - Suit de l'essai de stabilité
 - Prolongation de la durée de validité annoncée
 - Prélèvement d'inspection [5].

2. Validation des procédés

Etablissement de la preuve en conformité avec les principes de bonne pratique de fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tous processus, procédure, matériel, matière première, article de

conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats est comptés.

Tandis que la validation consiste à vérifier qu'une opération, menée selon une procédure écrite donnée, conduit automatiquement au résultat attendu.

➤ **L'intérêt de la validation**

Les contrôles sur échantillons sont entachés d'une incertitude statistique, ce qui fait que certaines déviations peuvent conduire soit à une nécessité de retraitement ou de récupération, soit à un retard de production ou à une perte de produit ou de main d'œuvre, soit même à des effets néfastes sur l'efficacité, la tolérance ou la stabilité d'un médicament.

Toute validation se termine par un rapport écrit comprenant la rédaction de la procédure de la validation. Dans un dossier d'AMM, le fabricant doit décrire tous les procédés de validation auquel il a eu recours de la période de développement jusqu'à la production industrielle et démontrer ainsi que ses lots à l'échelle industrielle sont de qualité parfaitement identique à celle des lots utilisés pour les essais cliniques [38].

3. Méthodes d'étude de stabilité d'un médicament

Pour chaque produit pharmaceutique, la durée et les conditions de conservation doivent être établies à la base des essais de stabilité en temps réel et accélérée effectués sur au moins un lot qui devront être obtenus par la même méthode de synthèse et selon le même procédé de fabrication :

3.1. Etude de stabilité en temps réel

Etude expérimentale des caractéristiques physiques, chimiques, biologiques et microbiologiques d'un médicament pendant sa durée de validité et d'utilisations prévue et au-delà dans des conditions de stockage prévues pour le marché auquel il est destiné

Les conditions de longue durée permettent de définir la date de péremption du produit, l'intervalle de temps où le produit reste conforme à ses spécifications [23].

L'étude de stabilité peut être influencée par le climat de la région, l'OMS a défini quatre grandes zones climatiques présentes dans le tableau n°4 [23].

Tableau n°4 : Les grandes zones climatiques [23]

Zones climatiques	Conditions d'étude en temps réel	
	Températures	Hygrométries
Zone I Climat tempéré	21°C	45 % HR

Zone II climat méditerranéen et subtropical avec possibilité de forte Humidité.	25°C	60 % HR
Zone III Climat chaud et sec	30°C	35 % HR
Zone IV Climat chaud et humide	30°C	65 % HR

3.2. Etude de stabilité en temps accéléré

Ces études sont destinées à augmenter la vitesse de dégradation chimique ou physique d'un médicament en le soumettant à des conditions de stockage extrêmes dans le cas du programme officiel des études de stabilité voire le tableau n°5 [39].

Tableau n°5 : Les conditions de stockage [39]

Etude	Conditions d'entreposage	Période minimale pour laquelle des données sont disponibles au moment de la présentation
Longue durée	25°C±2°C/60 HR±5	6> mois
Dégradation accélérée	40°C±2°C/75 HR±5	6 mois

4. Principales causes d'altération des médicaments

Les altérations des médicaments peuvent être attribuées à trois sortes de facteurs à savoir : physiques ; chimiques ; et biologiques.

➤ Influence des agents physiques

La lumière et la chaleur sont les deux principaux agents physiques responsables de l'altération des médicaments. Elles accélèrent les réactions, les transformations moléculaires, l'évaporation des solvants, etc [12].

➤ Influence des agents chimiques

A- Agents d'origine externe

Ils peuvent provenir du matériau constituant les récipients, dans le cas de préparations liquides par exemple. L'air atmosphérique est la principale cause d'altération des médicaments en entraînant des phénomènes d'oxydation et de réactions d'hydrolyse.

B- Agents d'origine interne

Les différents composants de la formule galénique peuvent être à l'origine d'incompatibilités, surtout en milieu liquide. Le pH peut entraîner des dissociations moléculaires [12].

➤ **Influence des agents biologiques**

Ces agents biologiques peuvent être : des insectes, des micro-organismes qui se développent dans les médicaments et des enzymes [12].

❖ **Date de péremption d'un médicament**

La détermination de la date de péremption d'un médicament s'effectue à partir d'études de dégradation accélérée et d'études de stabilité en temps réel. En règle générale, un médicament est déclaré périmé lorsque le titre initial en principe actif a diminué de 10% [40].

5. Etat de l'art sur les études de stabilité, de l'antibiotique « Amoxicilline / Acide clavulanique »

Plusieurs études de stabilité ont été réalisées sur les principes actifs l'Amoxicilline et l'Acide clavulanique. Nous avons présenté une synthèse non exhaustive sur les études de stabilité de l'antibiotique « l'amoxicilline /l'acide clavulanique » dans le tableau n°6.

Tableau n°6 : Synthèse sur les études de stabilité de l'antibiotique, L'amoxicilline /l'acide clavulanique (réalisé par nous)

Auteur	Thème	Produit	Objet de l'étude de stabilité
Benaich.G Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques 2009-2010 [39]	Etude de stabilité de l'amoxicilline et l'acide clavulanique	l'amoxicilline et l'acide clavulanique	L'étude de la dégradation forcée de l'acide clavulanique dans les conditions normales et l'étude de Stabilité de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique sous forme de poudre en sachets et en suspension reconstituée au Laboratoire National de Contrôle des Médicaments (LNCM)
MahyoobAlburyhi M. Ahmed Siaf A.	Stability study of six brands of Amoxicillin	Augmex;Augmaclave Augmen ;Neocalve ; Augmentin	Six solutions reconstituée à température 25/40°C

AlwanNoman M. Yemen 2013 [41]	Trihydrate and Acid Clavulanic oral suspension présent in Yémen markets.	JuImentin	
Addotey.J Yeboah.L Adosraku.A Kumasi, Ghana 2014 [42]	Stability Studies on Reconstituted Amoxicillin-Clavulanic Acid Oral Powder by HPLC Method Development and Quantification	Amoxicilline et d'acide clavulanique	Solutions reconstituées d'Amoxicilline et d'acide clavulanique dans L'eau purifiée, L'eau minérale commerciale, L'eau de robinet traitée et conservée pendant 7 jours dans le réfrigérateur à 2 et 8°C et à l'air ambiant
Abbou.S Université de Abderahman Mira de Bejaia 2015/2016 [43]	Etude de stabilité et contrôle qualité sur Augmentin PPSB 60ml.	Augmentin PPSB 60ml	Suivre les tendances de stabilité d'un lot de routine et lot de validation jusqu'à la date de péremption à l'unité GSK (Laboratoire Glaxo Smith Kline) Boudouaou
Nedjar.A Bougeuzzana. N Université de M'Hamed Bougera boumerdes 2016/2017 [9]	Etude de stabilité d'un médicament Clamoxil 1g comprimé dispersible	Clamoxyle comprimé 1g	Suivi de Clamoxyle , comprimé durant sa durée de validité dans les conditions réelles Température : 25 ± 2 °C (23 à 27)°C Humidité: 60 ± 5 % (55 à 65) % à l'unité GSK (Laboratoire Glaxo Smith Kline) Boudouaou
Seba.RLounaci. A Université M'hamed Bougara Boumerdès	Contrôle de qualité et de stabilité d'un produit	Augmentin poudre pour suspension buvable 60 ml	Contrôle qualité sur le produit pharmaceutique Augmentin poudre pour suspension buvable 60 ml

2017/2018 [10]	pharmaceutique		à l'unité GSK (Laboratoire Glaxo Smith Kline) Boudouaou
--------------------------	----------------	--	--

Conclusion

La stabilité est une période de conservation acceptable d'un médicament dans des conditions définies est celle durant laquelle les caractéristiques physiques, chimiques, microbiologiques, galéniques et toxicologiques subissant éventuellement des modifications dans limites acceptables.

L'étude de stabilité est de découvrir comment un produit pharmaceutique ou une substance active se modifie dans des conditions données (température, humidité et lumière)

Il existe quatre types de stabilité : Stabilité des lots de validation, stabilité des lots de routine, stabilité intermédiaire (holding time), stabilité en cas d'investigation.

Dans notre étude on s'intéresse à l'étude de stabilité des lots de validation de l'antibiotique Augmentin[®] sachet dans les conditions accélérées et réelles.

Introduction :

Afin d'apprécier et d'assurer la qualité d'un produit fini, la réglementation et tous les référentiels exigent de faire un contrôle continu de la chaîne de fabrication et cela à partir des matières premières jusqu'au produit fini, ce dernier qui doit être stable durant toute sa période de validité [34].

Pour pouvoir mettre un lot de médicament sur le marché, il doit être conforme aux exigences élaborées par le laboratoire, et pour se faire plusieurs tests sont appliqués.

Notre travail a pour objet, l'étude de stabilité du produit fini pharmaceutiques l'antibiotique Augmentin® sachet dans les conditions accélérées et réelles afin d'assurer sa conformité par rapport aux réglementations et référentiels de l'industrie pharmaceutique.

La partie expérimentale a été réalisée au sein de l'unité GSK (laboratoire Glaxo Smith Kline) de Boudouaou. Nous allons décrire dans ce chapitre le matériel, l'appareillage ainsi que la méthodologie de notre travail.

1. Présentation du site GlaxoSmithKline « GSK »



Le laboratoire GlaxoSmithKline est présent dans un grand nombre de domaines thérapeutiques, pour répondre aux attentes des professionnels de santé et des patients de toutes origines, de tous âges et de tous niveaux sociaux. Pour les maladies les plus fréquentes comme pour les maladies rares, il propose des solutions adaptées aux besoins microéconomiques de chacun : l'accès aux traitements pour tous et partout dans le monde est une priorité Parmi ces domaines, trois intéressent essentiellement le groupe : les infections, les pathologies du système nerveux central et les troubles gastriques et du métabolisme, contre lesquels il propose divers médicaments et vaccins. De plus, il propose des traitements contre le cancer, le rhume, l'asthme, l'allergie, la migraine et l'herpès, et il poursuit d'importantes recherches concernant la mise au point de traitements de lutte contre le VIH et propose une large gamme de formulations sans ordonnances vendus en pharmacie tel que les produits de santé dentaire (dentifrice Aquafresh, Sensodyne...) [3].

GSK Algérie, situé dans la zone industrielle de Boudouaou (Boumerdès), a été conçu pour assurer la production des principaux antibiotiques de ce groupe, en l'occurrence Augmentin, Clamoxyl, et Floxapen, ainsi qu'une gamme non antibiotique qui comprend :

Derogat (anxiolytique), Bactroban, Sargenor (vitamine C), Salbutamol (bronchodilatateur) [36].

La société « GSK » dispose d'équipements technologiques de haute performance pour sa production. GSK Algérie est constituée :

- Une unité de fabrication des produits pénicilliniques ;
- Une unité de fabrication des produits non pénicilliniques ;

- Une aire de stockage des matières premières et produits finis
- Deux laboratoires de contrôle de qualité (antibiotiques et non antibiotiques) ;
- Une station d'épuration d'eau ;
- Une station d'épuration des déchets.

L'organisation du laboratoire contrôle qualité des antibiotiques « GSK » est Schématisée dans la figure N°5

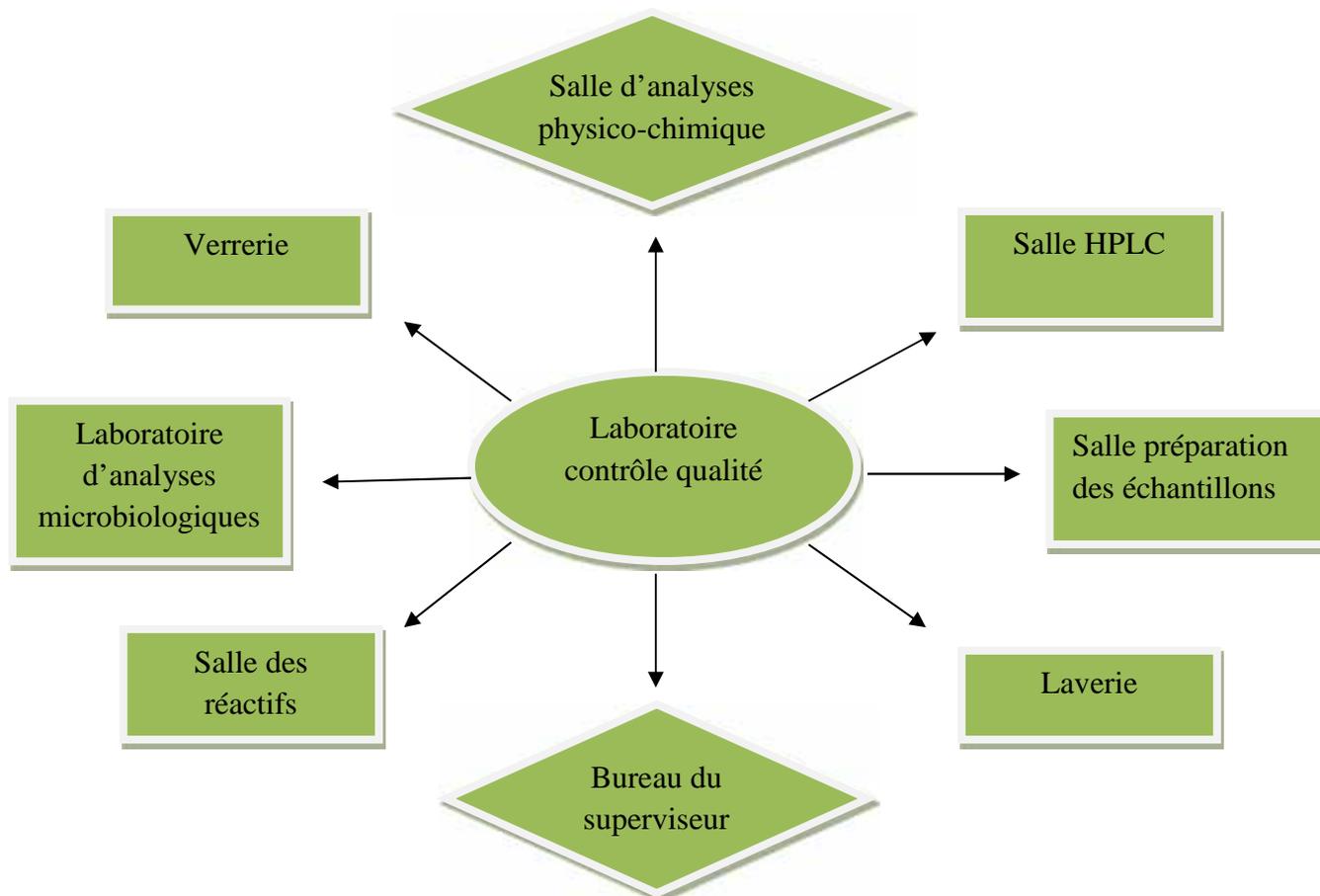


Figure n°5 : Organisation du laboratoire contrôle qualité des antibiotiques

2. L'antibiotique Augmentin®

Augmentin® est un antibiotique de la famille des β -lactamine, indiqué pour le traitement de différentes infections bactériennes chez l'adulte et l'enfant. Composé de deux principes actifs : Amoxicilline trihydratée et l'acide clavulanique. [37].

Augmentin est utilisé chez l'adulte et l'enfant pour traiter les infections suivantes :

- ❖ Infections de l'oreille moyenne et des sinus.
- ❖ Infections des voies respiratoires.
- ❖ Infections des voies urinaires.
- ❖ Infections de la peau et des tissus mous, incluant les infections dentaires. [37].

2.1. Les formes disponibles d'Augmentin®

Les formulations orales d'Augmentin sont disponibles dans le monde entier depuis 1981. Au fil des années, le rapport amoxicilline/acide clavulanique a été modifié pour répondre aux besoins de la prescription, afin d'améliorer la commodité du dosage et répondre aux recommandations relatives au traitement d'infections plus sévères ou à celles dues à des organismes résistants. Les formes disponibles d'Augmentin comprennent :

- Comprimés de 875 mg/125mg contenant l'équivalent de 875 mg d'Amoxicilline et de 125mg d'acide clavulanique. Comprimé blanc enrobé, de forme ovale gravés A et C sur les 2 faces ;
- Poudre pour suspension buvable en sachet-dose pour l'adulte à 1 g/125 mg et pour l'enfant à 500mg/125mg. Chaque sachet contient une poudre destinée à être délayée dans de l'eau ;
- Poudre pour suspension buvable en flacon avec cuillère-mesure ou seringue doseuse graduée en kg incluse, deux formes sont disponibles :
 - ✓ Augmentin® nourrisson à 100 mg/12,5 mg par ml (flacon correspondant à 30 ml de suspension buvable reconstituée),
 - ✓ Augmentin® enfant à 100 mg/12,5 mg par ml (flacon correspondant à 60 ml de suspension buvable reconstituée) [37].



Figure N°6 : Les formes disponibles d'Augmentin® GSK

2.2. Principaux composants d'Augmentin® :

L'antibiotique Augmentin est composé de :

➤ **Principes actifs :**

❖ **Amoxicilline trihydratée :**

Nomenclature: Acide (2*S*, 5*R*, 6*R*)-6-[[*(2R)*-2-amino-2-(4-hydroxyphényl) acétyl] amino]-3,3-diméthyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptane-2-carboxylique trihydraté. L'amoxicilline trihydratée est une molécule hémisynthétique du formule chimique « C₁₆H₁₉N₃O₅S, 3H₂O » et de masse molaire 365,4 Da, appartenant à la classe A des pénicillines. Il est sous forme de poudre cristalline blanche, qui est peu soluble dans l'eau, très peu soluble dans l'éthanol, pratiquement insoluble dans les huiles grasses. [39].

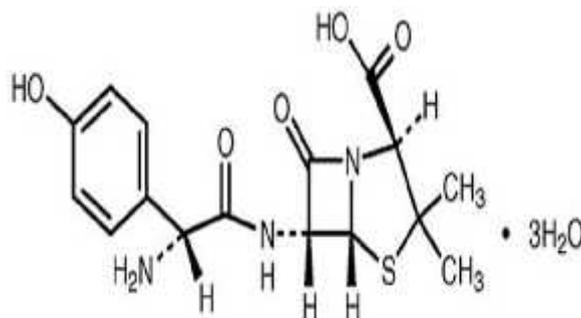


Figure n°7 : Structure de l'Amoxicilline tri-hydratée. [39]

❖ **Acide clavulanique (Clavulanate de potassium) :**

Nomenclature : (2*R*, 3*Z*, 5*R*)-3-(2-Hydroxyéthylidène)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] heptane-2-carboxylate de potassium. Le clavulanate de potassium est de formule chimique « C₈H₈KNO₅ » avec une masse molaire de 199,16 Da. C'est une substance naturelle produite par *Streptomyces clavuligerus* et qualifié en tant qu'inhibiteur inversible de la β -lactamase, il est administré conjointement avec certaines pénicillines comme l'amoxicilline et la ticarcilline, afin d'en élargir leur spectre d'action. Ce produit est sous forme de poudre cristalline, blanche ou sensiblement « blanche hygroscopique », qui est facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol et très peu soluble dans l'acétone [39].

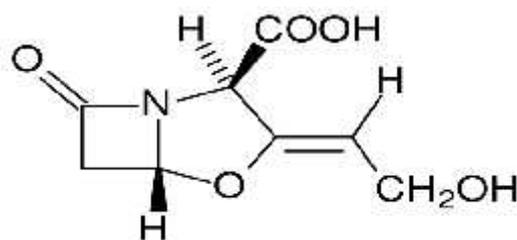


Figure n°8: Structure de L'acide clavulanique [39]

➤ **Excipients :**

- ❖ Crospovidone
- ❖ silice précipitée hydratée
- ❖ arôme pêche-citron-fraise (huiles essentielles d'orange, de bergamote et de citron, vanilline, butylhydroxyanisole (E320), maltodextrine),
- ❖ aspartam (E951).
- ❖ *Excipients à effet notoire* : aspartam (E951) : source de phénylalanine, maltodextrine (glucose). [40]

3. Plan d'échantillonnage du produit fini Augmentin sachet :

L'échantillonnage est effectué par les opérateurs de production de manière à avoir un prélèvement représentatif du lot et la quantité nécessaire aux différents contrôles effectués sur le médicament. Il se fait au niveau de la chaîne de production, ou du magasin. [52]. Voir tableau N°7.

Tableau N°7 : plan d'échantillonnage d'un lot mis en stabilité [52]

ESSAI	LOT DE VALIDATION
Caractère	1sachet D, 1sachet M, 1sachet F
Identification et dosage par HPLC : Amoxicilline Acide clavulanique	Effectué sur le nombre de sachets pour le contrôle de la répartition.
Masse moyenne	60 sachets
Uniformité de teneur	10 D, 10 M, 10Fin
Mise en suspension et PH	1sch D, 1sch M, 1sch F
Teneur en eau	1sachet D, 1sachet M, 1sachet F
Dosage des MTI (Mercury Titration Impurity)	1sachet D, 1sachet M, 1sachet F
Clavulante polymères	04sch D, 04sch M, 04sch F

D : début du lot

M : milieu du lot

F : fin du lot

Sch : sachet

➤ Réception et préparation des échantillons :

Le stockage des échantillons avant introduction dans les enceintes doit faire au niveau du laboratoire en atmosphère contrôlée, les échantillons sont stockés dans un lieu sécurisé.

L'analyste responsable de la gestion des stabilités doit s'assurer de la ségrégation des échantillons en fonction des conditions de stabilité et doit identifier chaque échantillon par une étiquette comportant les mentions suivantes :

- Le nom du produit
- Le numéro de lot
- Le temps d'analyse
- Les conditions de stockage (température, Humidité Relative).
- La date d'entrée en stabilité et la date de fin de stabilité
- Analyse et visa.

Les échantillons sont regroupés et placés à l'intérieure de l'enceinte climatique correspondante.[52]
Voir figure n°12

➤ Les Chambres climatiques :

Les chambres climatiques, également appelée chambres d'essais climatiques, créent les conditions définies pour réaliser des tests de stabilité de différents matériaux. Une chambre climatique permet de simuler différentes valeurs de température et d'humidité. Pour certains échantillons, la simulation lumineuse est également importante.

Les chambres climatiques se séparent en deux grands groupes : chambres climatiques à conditions constantes et chambres d'essais climatiques.

Souvent utilisées pour des tests de stabilité durable, les chambres climatiques à conditions constantes maintiennent la température et l'humidité à un niveau défini.

Les chambres d'essais climatiques permettent d'exécuter certains programmes-cadres avec un changement automatique de la température et de l'humidité à des intervalles définis [53] Voir figure n°13



Echantillons mis en stabilité

Le nom du produit :

Le numéro de lot :

Temps T d'analyse :

Conditions de stockage (T°, HR) :

La date d'entrée en stabilité :

La date de fin de stabilité :

Time line :

Date prévue	Sortie prévue (avant)	Sortie prévue (Après)	Start Testing	Completed Testing

Figure n°9 : Etiquette d'identification des échantillons [25]



Figure 10 : Enceintes climatiques

Tableau n°8 : Essais réalisés sur le produit fini [54]

ESSAI	LOT DE VALIDATION
Caractère	oui
Identification et dosage par HPLC Amoxicilline Acide clavulanique	oui
Masse moyenne	oui
Uniformité de masse	oui
Mise en suspension et PH	oui
Teneur en eau	oui
Dosage des MTI (Mercury Titration Impurity)	oui
Clavulante polymères	oui

Tableau n°9 : Analyses et normes appliquées à Augmentin® sachet 1g/125mg et 500mg/62.5mg

Détermination	Normes	
	A la libération du lot	Pour la durée de validité proposée
Caractère	Conforme	Conforme
Masse moyenne	±5 de la masse théorique	NA
Uniformité de teneur	Conforme	Conforme
Uniformité de masse	Conforme	NA
Mise en suspension	Conforme	Conforme
Ph	4.0-6.0	4.0-6.0
Teneur en eau	9.5 -11.5	9.5 -11.5
Identification de l'acide clavulanique (HPLC)	Conforme	Conforme
Identification de l'amoxicilline (HPLC)	Conforme	Conforme
Dosage de l'acide clavulanique par HPLC :		
-1g/125mg	118.75-131.25mg	112.5-131.25mg
-500mg/62.5mg	59.38-65.62mg	56.25-65.62mg
Dosage de l'amoxicilline par HPLC		
-1g/125mg	950-1050mg	900-1050mg
-500mg/62.5mg	475-525mg	450-525mg
Impuretés Titrables par Mercurimétrie MTI	5.0	5.0
Polymères clavulanate	NA	5.5

4. Le contrôle d'Augmentin® sachet 1g/125mg et 500mg/62.5mg

On distingue deux types de contrôle sur le produit fini Augemntin sachet 1g/125mg et 500mg/62.5mg :

- ❖ Le contrôle physico-chimique
- ❖ le contrôle microbiologique

4.1. Contrôle physico-chimique :

➤ caractère :

- **Produit fini :**

Sachet formé d'un complexe papier aluminium-polyéthylène contenant une poudre jaune pâle d'odeur caractéristique. [54]

➤ **Identifications :**

Les identifications de l'Amoxicilline et de l'acide clavulanique sont réalisées par HPLC en comparaison avec les substances de référence lors du dosage de ces principes actifs. [41]

➤ **Masse moyenne :**

- **Appareillage :**

Cet essai est réalisé à l'aide d'une balance Metler Toledo utilisée au laboratoire AB de contrôle qualité GSK Boudouaou pour l'analyse des matières, premières, intermédiaires et produits finis. [54]



Figure n°11 : balance analytique Metler Tolédo

- **Mode opératoire :**

- Peser individuellement 20 sachets pleins (7 du début de lot 6 du milieu et 7 de la fin)
- Vider, rincer l'intérieur avec de l'eau distillée et sécher les à l'étuve pendant une heure à 80°C.
- Laisser les sachets reprendre la température ambiante pendant deux heures minimum.

La masse déduite = (masse du sachet rempli - masse du sachet vide séché)

Selon la procédure la masse moyenne ne doit pas s'écarter de $\pm 5\%$ de la masse théorique .

➤ **Aspect de la suspension :**

Le contrôle visuel du produit fini nous permet de déterminer à première vue les critères de produit tel que : la couleur.[54]

• **Mode opératoire :**

Introduire le contenu d un sachet dans un bécher puis compléter avec 15ml d eau purifiée, agiter pendant 30 secondes environ.

On obtient une suspension homogène, qui au repos, donne un sédiment blanc en 3 minutes environ

➤ **pH :**

• **Appareillage :**

Le teste du pH est réalisé sur la solution précédente a l aide l un pH mètre...



Figure n°12 : pH-mètre

➤ **Uniformité de teneur en eau**

Déterminer la teneur en eau par potentiomètre selon la méthode de Karl Fischer sur deux prises d'essai d'environ 100mg de poudre.

Temps d'agitation : 90secondes.[54]

• **Appareillage**

Le dosage est réalisé par un tritrateur volumique, l'appareil met à profit une méthode dite Karl Fisher



Figure n°13 : Titreur Karl Fisher

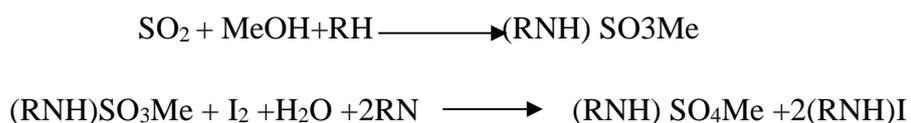
- **Principe de Karl Fisher**

Le titrateur Karl Fisher (KF) est un dosage volumétrique de l'eau.

Le titrateur Karl Fisher (KF) est un processus en 2 étapes :

La première étape concerne une réaction du dioxyde de soufre avec le méthanol pour former un ester, qui est neutralisé par une base azotée.

La seconde étape est une oxydation rapide de l'anion alkyle sulfite en alkyl sulfate par l'iodine, une réaction qui consomme de l'eau.



Le titreur Karl Fisher est utilisé pour la détermination de la teneur en eau :

- de certaines matières premières : substances actives et excipients,
- de produits semi-finis et produits finis [55]

- **Mode opératoire**

Le dosage est réalisé sur deux prises d'essai de 100 mg de poudre sachet, le temps d'agitation est de 90 secondes.

➤ **Dosage des principes actifs (l'amoxicilline et l'acide clavulanique) :**

- **Appareillage :**

- HPLC Perkin Elmer.
- HPLC Waters

C'est l'analyse quantitative et qualitative des principes actifs. La détermination de la teneur en Amoxicilline et en Acide clavulanique est réalisée par HPLC par comparaison à la substance de référence de titre connu. La détection en sortie de colonne s'effectue par spectrophotométrie dans UV à 220 nm. [41]

- **Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)**

La chromatographie en phase liquide à haute performance est l'une des techniques de séparation analytiques récentes les plus employées dans les laboratoires d'analyse chimiques.

Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange. Elle est dotée d'une grande précision permettant la recherche de traces, il est possible de la coupler à un spectromètre de masse.

Son principe repose sur la séparation de plusieurs composés dans un échantillon grâce à une colonne contenant du gel de silice, appelée phase stationnaire, par pompage d'un solvant, appelée phase mobile, à travers la colonne selon l'affinité unique de chaque composant existant entre la phase mobile et stationnaire.

Les composés migrent le long de la colonne à différentes vitesses et ressortent à différents temps, établissant ainsi une séparation du mélange.

Les composés qui ont une grande affinité envers la phase mobile migrent plus rapidement vers le bas de la colonne, tandis que ceux qui ont une grande affinité envers la phase stationnaire migrent lentement.

La séparation et le temps de migration des composés à séparer dépendent des différences d'affinités de ces composés pour les phases mobile et stationnaire. [56]



Figure n°14 : HPLC « waters »

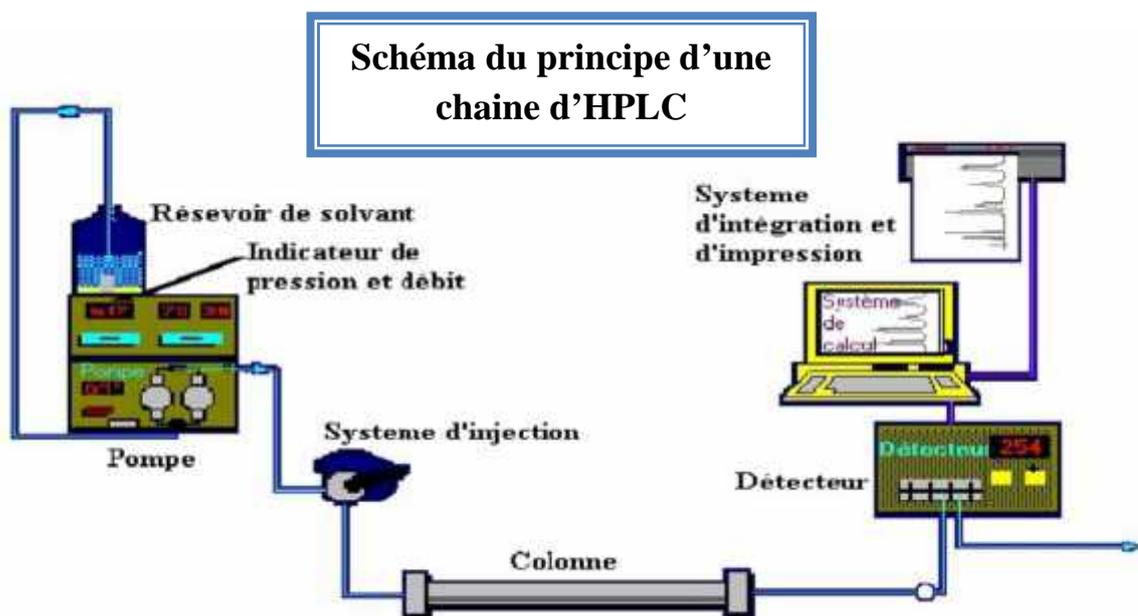


Figure 15: Principe de fonctionnement de l'HPLC. [42]

- **Réactifs :**

Méthanol pour HPLC.

- **Solution tampon pour phase mobile :**

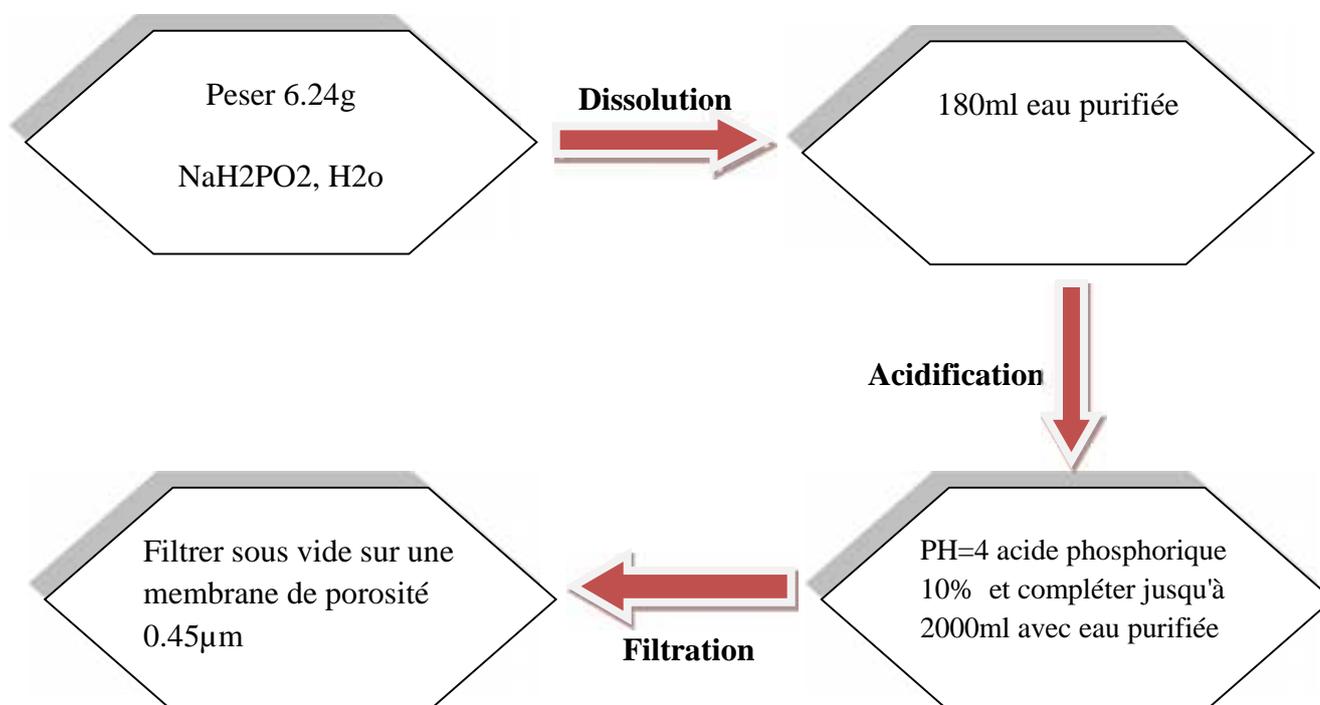


Figure n°16 : Schéma de préparation de la phase mobile pour HPLC : Solution de dihydrogénophosphate de sodium 0.02M (NaH_2PO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$).

Introduire dans un bécher 6.24g de NaH₂PO₂·2H₂O. Ajouter environ 1800ml d'eau purifiée. Agiter jusqu'à dissolution complet du sel. Ajuster précisément le pH à 4.0 à l'aide de l'acide phosphorique dilué. Une fois le pH atteint. Transférer dans une fiole jaugée de 2000ml, puis compléter au volume avec de l'eau purifiée.

Après homogénéisation filtrer sous vide sur une membrane de porosité 0.45µm.

- **Colonne**

- Phase : C18
- Longueur : 15cm
- Phase interne : 3.9mm
- Phase particules : 10µm
- T° d'utilisation : Ambiante (=20C°)
- Pré colonne : C18 (20*3.9mm*10µm)

- **Conditions analytiques :**

- Débit : 1.5ml/min(*)
- Détection UV : 220nm
- Volume d'injection : 10ul
- Température échantillons : 5°C
- Température colonne : 20°C (*)
- Temps d'analyse échantillon : 15 min (*)
- Temps d'analyse standard : 07 min (*)
- Temps de rétention du Clavulanate : 2 min
- Temps de rétention de l'Amoxicilline : 4 mi

- **Phase mobile :** gradient d'élution pour l'injection des solutions (échantillons) comme ci-dessous et isochratique (1.5 ml/min) pour les injections des solutions étalons.

Tableau n°10 : Gradient d'élution pour l'injection des solutions échantillons

Temps en min	tampon phosphate 0.02 M à ph 4.0 (% V/V)	Méthanol (% V/V)	Débit (ml/min)
0	95	5	1.5

3.5(*)	95	5	1.5
7	50	50	1.5
10	50	50	1.5
11	95	5	1.5
15	95	5	1.5

(*) Paramètre pouvant être adaptés en fonction du volume mort de l'appareil [56].

• **Mode opératoire :**

• **Etalons**

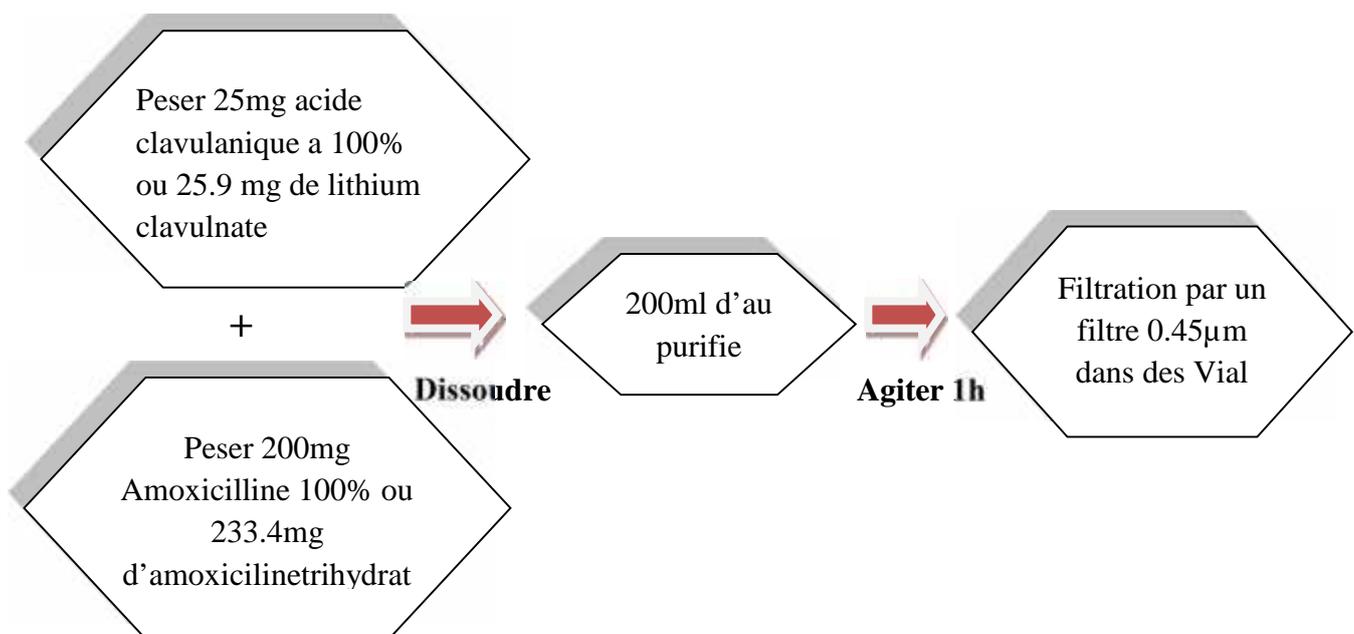


Figure n°17 : Schéma de préparation du standard des principes actifs [56]

- Solution essais :
- Echantillon (produit fini) :

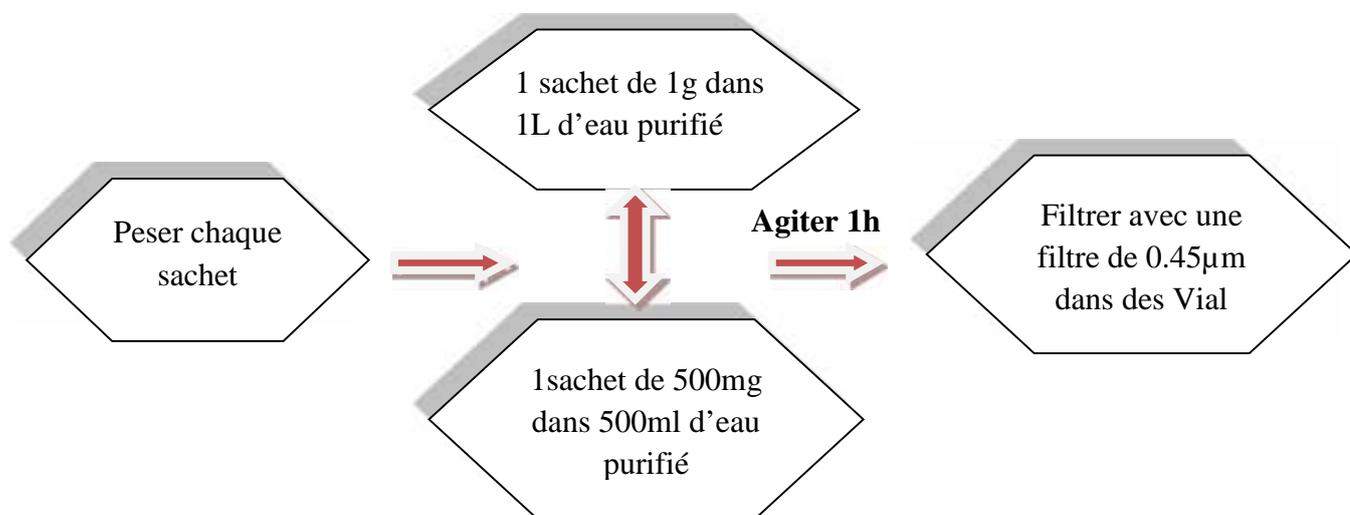


Figure n°18 : schéma de préparation des échantillons

- **Plan d'injection** : Réaliser quelque injection de manière à conditionner la colonne, et vérifier que les paramètres d'analyses sont corrects, puis procéder au plan d'injection des étalons selon la procédure d'étalonnage d'une chaîne HPLC US/Qua/047, ensuite injecter les solutions d'essais.

Tableau n°11 : Plan d'injection

N° Injection	Solutions	SST	Prélèvement
1	Std 1	/	/
2	Std 1	S	/
3	Std 2	/	/
4	Std 1	S	/
5	Std 1	S	/
6	Std 1	S	/
7	Std 1	S	/

8	Std 2	/	/
9	Std 1	S	/
10	Aug D1	/	Début
11	Aug D2	/	Début
12	Aug M1	/	Milieu
13	Aug M2	/	Milieu
14	Aug F1	/	Fin
15	Aug F2	/	Fin
16	Std 1	S	/

- Calculs : Teneur en Amoxicilline et en Acide Clavulanique [41]

Les teneurs unitaires en Amoxicilline et en Acide Clavulanique sont données par les formules suivantes :

$$A_{cl} = \frac{A}{A} \times \frac{V}{V} \times \frac{T \times P}{1} = \text{Résultat C1}$$

$$\text{Amoxicilline} = \frac{A}{A} \times \frac{V}{V} \times \frac{T \times P}{1} = \text{Résultat A1}$$

AEa : Surface du pic d'amoxicilline de la solution échantillon.

AEc : Surface du pic d'acide clavulanique de la solution échantillon.

ATa : Surface du pic d'amoxicilline de la solution témoin.

ATc : Surface du pic d'acide clavulanique de la solution témoin.

Ta : Titre du standard de référence en amoxicilline (%).

Tc : Titre du standard de référence en acide clavulanique (%).

Pa : Prise d'essai du standard de référence en amoxicilline.

Pc : Prise d'essai du standard de référence en acide clavulanique.

Ve : volume de la solution échantillon.

Vt : volume de la solution témoin.

➤ **Produit fini :**

Les résultats exprimés en mg/sachet sont donnés par les formules suivantes :

- **Echantillon sachet 1g/125mg et 500mg/62.5mg :**

$$C2 \text{ en mg} = \frac{C1 \times P}{-P}$$

$$A2 \text{ en mg} = \frac{A1 \times P}{-P}$$

Avec :

PM: Poids moyen des sachets [41]

➤ **Dosage des MTI :**

- **Principe :**

Ce dosage est réalisé par potentiomètre à l'aide solution titrée de nitrate mercurique, en utilisant soit :

-Une électrode de référence de sulfate mercureux et une électrode de platine ou de mercure.

-Ou bien une électrode combinée à anneau de platine pour titrage redox.

Le résultat est exprimé en acide pénicillinique de l'Amoxicilline.[57]

- **Appareillage :**

DL 70 Mettler Toledo équipé d'une électrode de platine Réf Mettler Toledo DM 140-SC(Mettler Toledo).



Figure n°19 : potentiomètre Mettler Toledo

- **Réactifs :**

-Chlorure de sodium. NaCl « substance de référence secondaire »

-Nitrate mercurique. $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$.

-Hydroxyde de sodium. NaOH

-Anhydride acétique. $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$

-Acide acétique glacial $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$

-Imidazole $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$

-Acétate de sodium tri hydraté. $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

-Sulfate de fer II. $\text{FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$.

- **Préparation des solutions :**

- ❖ **Solution nitrate mercurique 0.02M**

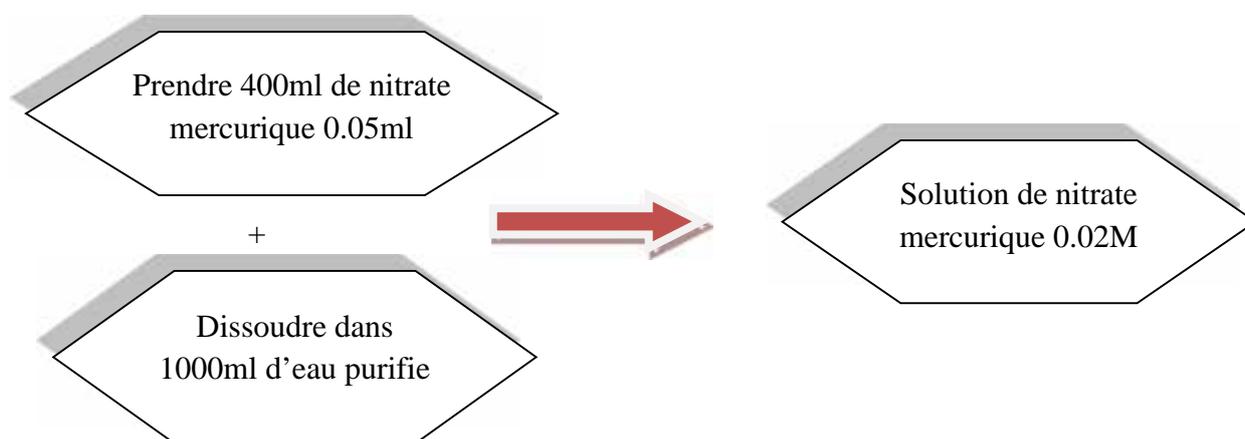


Figure n°20 : Préparation de la solution nitrate mercurique 0.02M

- ❖ **Hydroxyde de sodium 1M :**

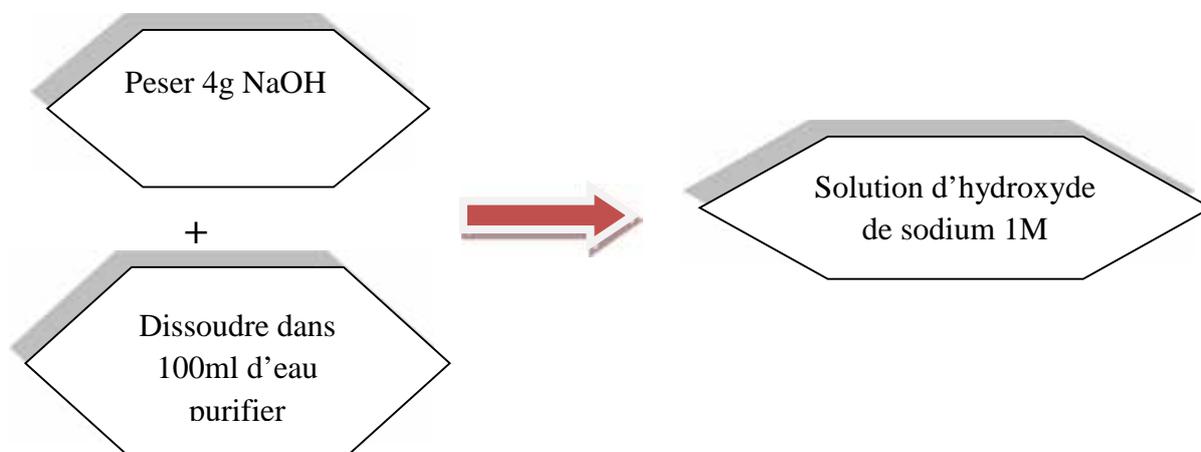


Figure n°21 : Préparation de la solution hydroxyde de sodium 1 M

❖ Tampon borate pH 9.0 :

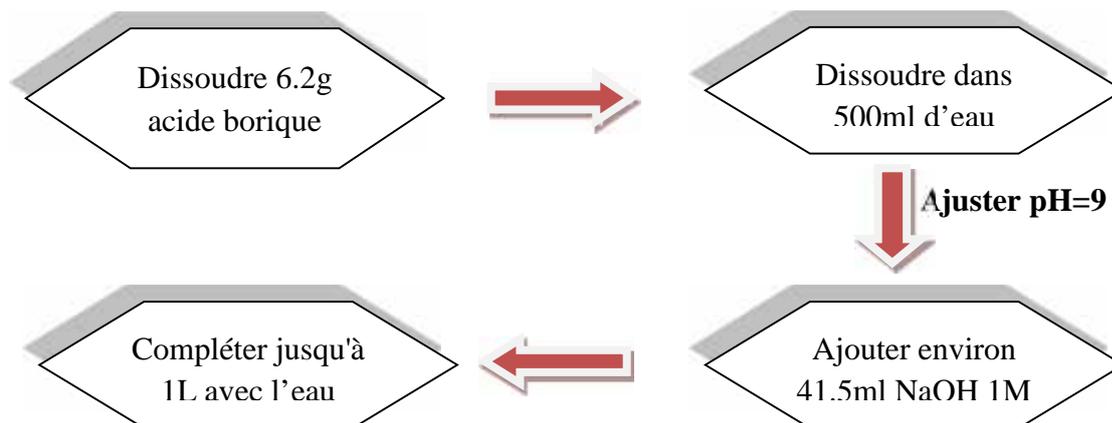


Figure n°22 : Préparation de la solution tampon borate ph 9.0

❖ Tampon acétate ph 4.6 :

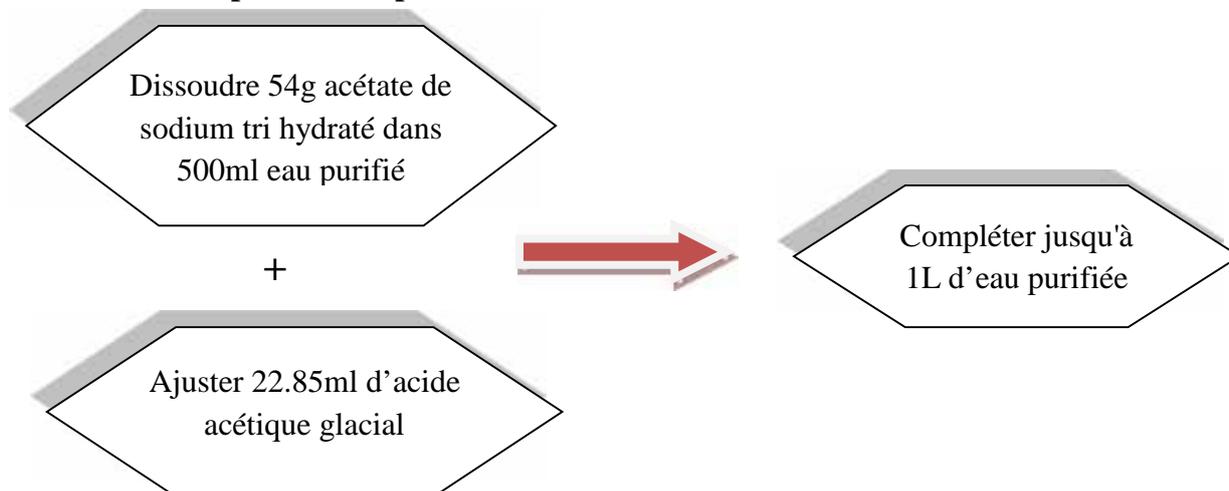


Figure n°23: Préparation de la solution tompon acétate ph 4.6

❖ Tampon imidazole pH 5.7 :

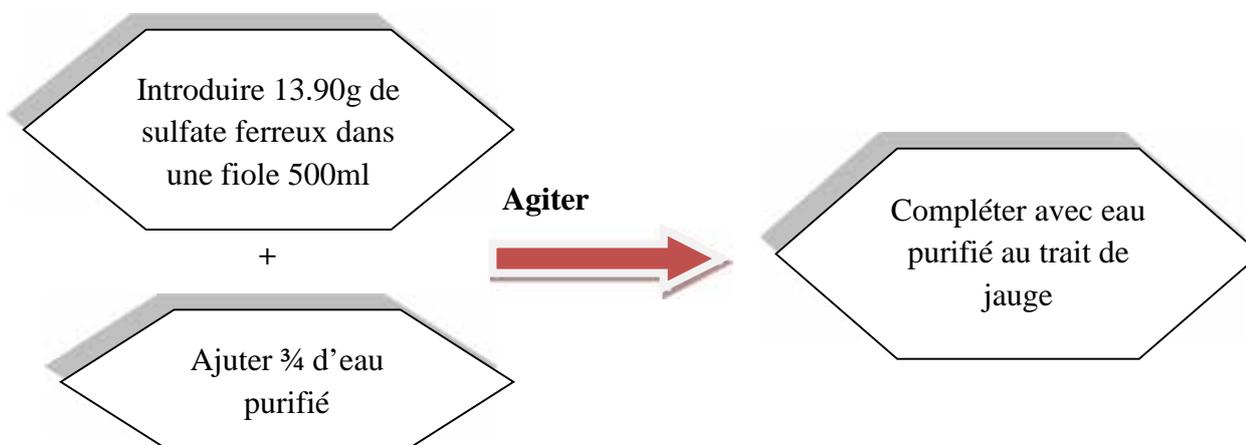


Figure n°24: Schéma de préparation de la solution tampon imidazole ph 5.7

❖ Titrage de la solution de nitrate mercurique (0.02M 5SE49) :

- **Réactifs :**

Solution de nitrate mercurique préalablement préparée.

Chlorure de sodium préalablement séché à 200°C pendant au moins 2 heures et ramené à la température ambiante dans un dessiccateur avant utilisation.[57]

- **Mode opératoire :**

Dans deux béchers de titrage, introduire une masse proche mais n'excédant pas 22.2mg de NaCl. dissoudre les éventuelles particules de NaCl des parois avec de l'eau purifiée. Placer le bêcher en position

Installer l'électrode puis lancer la méthode SB49.

Régénérer l'électrode pendant 1minute maximum dans la solution de sulfate de fer II la méthode SB49 titre et introduit le résultat de la concentration en nitrate mercurique exprimée en mol/l est calculée à partir de la formule suivant :[57]

$$M \text{ (Mol/l)} = \frac{P \times T}{V \times 5.4 \times 2 \times 1}$$

T : la pureté du chlorure de sodium, exprimée en %.

P1 : prise d'essai de NaCl.

V1 : volume de nitrate mercurique nécessaire à la titration au point d'équivalence.

- **Dosage des MTI de l'amoxiciline**

- **Mode opératoire :**

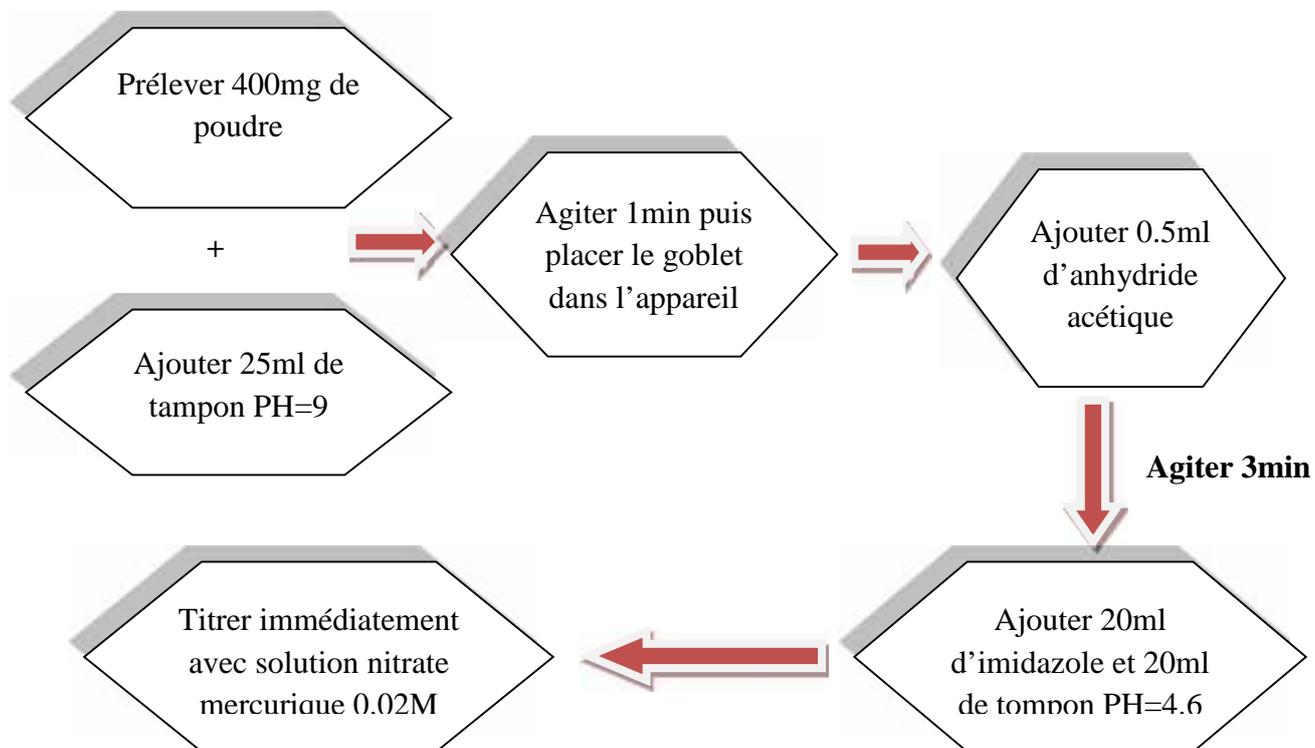


Figure n°25: Schéma du dosage des MTI de l'amoxicilline

-La teneur de l'échantillon en impuretés titrables par mercurimétrie est calculée comme suit :

$$D\% = \frac{V \times M \times 3.4 \times 1}{P}$$

383.40 = masse molaire de l'acide pénicillinique

M : concentration de la solution de nitrate mercurique

V2 : volume de nitrate mercurique nécessaire à la titration au point d'équivalence

P2 : masse de prise d'essai

$$\text{La teneur en \% des MTI} = \frac{D\% \times P3}{T}$$

T : Teneur théorique en gramme en Amoxicilline de la poudre/sachet

P3 : Poids théorique en gramme du lot fabriqué

Remarque : ne pas jeter les effluents à l'évier

Le contenu des béciers et les reliquats de nitrate mercurique doivent être récupérés en bidons correctement étiquetés pour élimination.

➤ **Dosage des Polymères du clavulanate :**

-Le dosage des polymères du clavulanate est réalisé selon la procédure US-MC-044

-Utilisation du détecteur fluor métrique Perkin Elmer.

-Prise d'essai correspondant à 250mg/l d'acide clavulanique dissoute dans l'eau purifiée.

-(Exemple : avec un titre de 59%, on aura à peser : PE 299.7°)

Sachets 1g : 4 Sachets dans 2000ml d'eau purifiée.

Sachets 500mg : 4 Sachets dans 1000ml d'eau purifiée.[58]

5. Contrôle microbiologique :

La présence de certains micro-organismes dans des préparations non stériles peut réduire voire annuler l'activité thérapeutique du produit, et constitue un danger potentiel pour la santé du patient. Pour cette raison, la maîtrise de la contamination dans l'industrie pharmaceutique est fondamentale, vue son impact sur la qualité du médicament. Le contrôle microbiologique permet de détecter toute anomalie qualitative et quantitative de la population microbienne pouvant altérer la qualité de médicament en minimisant les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication.[43]

➤ **Tests microbiologiques sur Augmentin® sachet 1g et 500mg :**

Afin d'apprécier la qualité microbiologique d'Augmentin sachet 1g et 500mg différents tests sont réalisés dans le but de rechercher et de dénombrer les microorganismes suivants :

- Des germes aérobies viables totaux, ce sont des microorganismes aptes à se multiplier à des températures ambiantes.
- Des levures et des moisissures, qui sont responsables de nombreux phénomènes d'altération d'enzymes hydrolytiques.
- Des germes spécifiques « *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Entérobactéries*, *Pseudomonas* et *Salmonelles* ».

La recherche de ces microorganismes proposée par la pharmacopée européenne sur le produit fini Augmentin est basée sur la mise en culture en utilisant la méthode de dénombrement sur plaque. Deux techniques sont possibles pour la réalisation de cette méthode, soit par ensemencement en profondeur, soit par étalement en surface [44]

Tous les tests sont réalisés dans des conditions permettant d'éviter toute contamination microbienne extrinsèque du produit à examiner, sous hotte à flux laminaire et matériel et milieux de culture stériles.

- **Préparation des échantillons**

A partir de trois échantillons provenant du début, milieu et fin de conditionnement du produit fini Augmentin sachet 1g/125mg et 500mg/62.5mg de lot contrôlé, on procède à préparer un échantillon moyen. Ensuite, une dilution décimale 1/10 a été réalisée dans un flacon stérile, contenant 10 g d'échantillon moyen plus 90 ml de Bouillon Tryptone-Soja (TSB). Une quantité précise de pénicillinase, et de sulfite de sodium 20% sont ajoutés à cette dilution afin d'inhiber l'activité des deux principes actifs : l'amoxicilline et l'acide clavulanique respectivement. Pour vérifier les conditions opératoires, un contrôle est effectué sur un témoin négatif « milieu vierge »

- **Dénombrement des germes aérobies mésophiles, les levures et les moisissures**

A partir de la dilution préparée, 1 ml est prélevé puis versé dans une boîte de pétri de 90 mm (2 boîtes pour les bactéries, 2 boîtes pour les levures et moisissures) puis complété par 20 à 25ml de gélose TSA pour les bactéries et par Sabouraud 4% pour les levures et moisissures. Les boîtes TSA sont incubées à 30-35 °C pendant 3 à 5 jours et les boîtes SGG à 20-25 °C pendant 5 à 7 jours. Le dénombrement se fait à l'aide du compteur de colonies après incubation.[34]

- **Recherche des germes spécifiques**

- **Dénombrement d'*Escherichia coli***

A partir de la dilution préparée, 10 ml est prélevé à l'aide d'une pipette pour l'ensemencement dans 90 ml de bouillon TSB. Ce mélange (Solution X) est bien homogénéisé avant qu'il soit incubé à 30-35°C pendant 24 h. Après incubation, 10 ml est prélevé pour la repiquer dans 90 ml de bouillon

MacConkey, puis incubé à 42-44 °C pendant 24h. Par la suite, un deuxième repiquage est réalisé dans une boîte de pétri contenant le milieu gélosé de MacConkey qui est ensuite incubé à 30-35°C pendant 24 à 48h. La lecture se fait à l'aide du compteur de colonies. Si y'a pas de croissance cela veut dire absence d'*E.coli*. La croissance de colonies rouges, généralement non-muqueuse indique suspicion de présence possible d'*E.coli*, dans ce cas onprocède à l'identification des germes poussés (coloration de gram, test oxydase, galerie biochimique) [34]

- **Recherche des *Staphylococcus aureus* :**

1 ml est prélevé à partir de la solution X et transféré dans une boîte de pétri contenant le milieu sélectif Chapman. Puis incubé à 30-35 °C pendant 24h à 48h. La lecture se fait à l'aide du compteur de colonies. Si y'a pas de croissance cela veut dire absence de *S. aureus*. La croissance de colonies jaunes/blanches entourées d'une zone jaune indique suspicion de présence possible de *S. aureus*, à confirmer par des essais d'identification.[34]

- **Recherche des Entérobactéries**

A partir de la dilution préparée, 10 ml est prélevé à l'aide d'une pipette puis repiquée dans 90 ml de milieu Mossel, qui est ensuite incubé à 30-35°C pendant 24h. Après, un deuxième repiquage est réalisé dans une boîte de pétri contenant le milieu VRBD. Cette boîte est incubée à 30-35°C pendant 24 à 48h. La lecture se fait à l'aide du compteur de colonies et la croissance de colonies rondes, entourées d'un halo pourpre indique suspicion de présence possible d'entérobactéries, à confirmer par des essais d'identification.[34]

- **Recherche des Salmonelles :**

Après incubation de la dilution préparée pendant 24h à 30-35 °C, 10ml est prélevé puis versé dans un flacon stérile contenant 90 ml de bouillon RVS, qui est incubée à 30-35 °C pendant 24h. Ensuite, un repiquage est réalisé dans une boîte de pétri contenant le milieu XLD, puis incubé à 30-35°C pendant 24 à 48h. La lecture se fait à l'aide du compteur de colonies et la croissance des colonies rouges bien développées, avec ou sans centre noir, indique la présence possibles des salmonelles, à confirmer par des essais d'identification.[34][44]

6. Méthodologie du contrôle d' Augmentin ® sachet 1g/125mg Adulte et 500mg/62.5mg Enfant

La méthodologie de notre travail expérimental est représentée dans les figures N° 39,40 et 41.

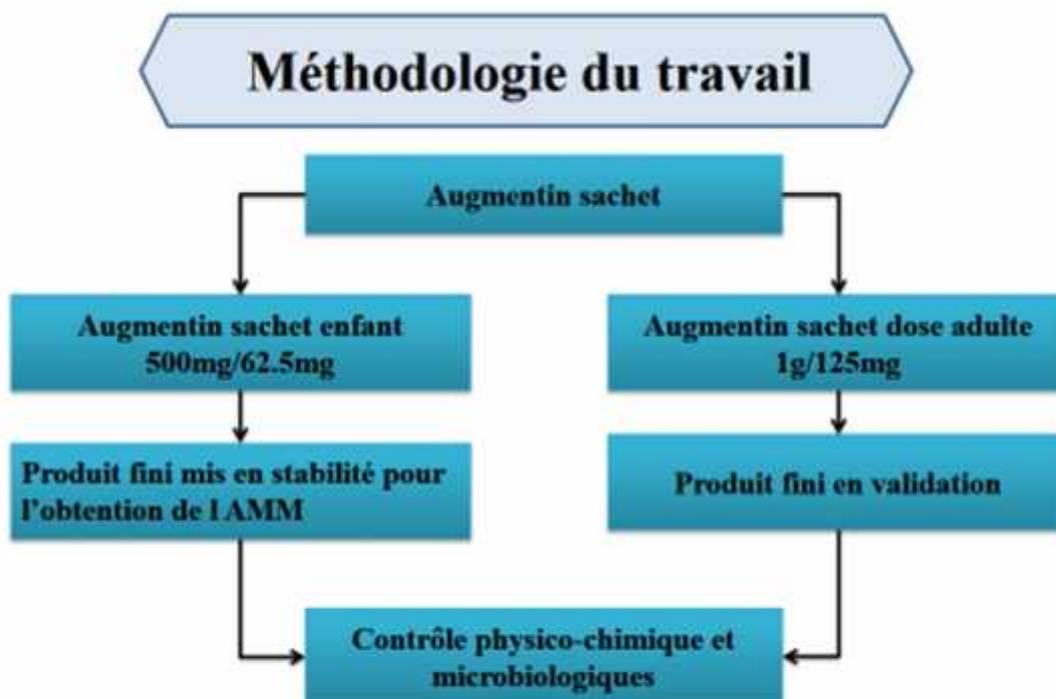


Figure N° 26 : Méthodologie du contrôle d'Augmentin® sachet 1g/125mg Adulte et 500mg/62.5mg Enfant.

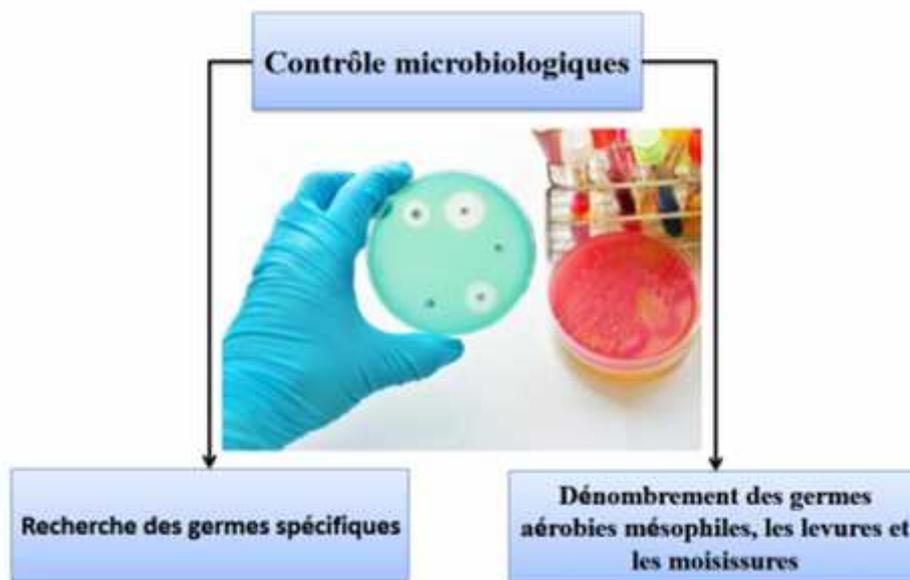


Figure n° 27: Contrôle microbiologique d'Augmentin® sachet 1g/125mg Adulte et 500mg/62.5mg Enfant.

Conclusion :

Notre étude expérimentale (représentée dans les figures N°40 et 41) a été réalisée en deux phases:

-Pour la production d'Augmentin sachet 1g/125mg, il ya eu une modification de la taille du lot d'où une augmentation de poids du lot(de 180kg à 360kg), donc les premiers travaux consistaient à étudier la stabilité d'un lot de validation (N°607051) Augmentin® sachet 1g/125mg, mis en stabilité dans les deux conditions réelles : Température : 25 ± 2 °C (23 à 27)°C Humidité: 60 ± 5 % (55 à 65) % et Accélérées Température : 40 ± 2 °C (38 à 42) °C Humidité : 75 ± 5 % (70 à 80) % dans la zone II.

- dans la deuxième phase nous avons pris en en charge la validation de trois lots (808001-808002-808004) d'une nouvelle dose d'Augmentin® sachet 500mg/62.5mg dans le but d'effectuer une demande d'autorisation de mise sur le marché Algérien.

Les analyses réalisées sont, **pour le contrôle physico-chimique :**

- Aspect.
- Identification (Par HPLC).
- Masse moyenne.
- Uniformité de masse.
- Dosage des principes actifs par HPLC.
- Uniformité de la teneur.
- Tests microbiologiques.
- La teneur en eau
- Dosage des MTI
- Dosage des polymères de clavulanate

Pours le contrôle microbiologique, nous avons pris en considération les résultats suivants :

- Recherche des germes spécifiques, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, des Entérobactéries, les Salmonelles
- et recherche des germes aérobies mésophiles, les levures et les moisissures.

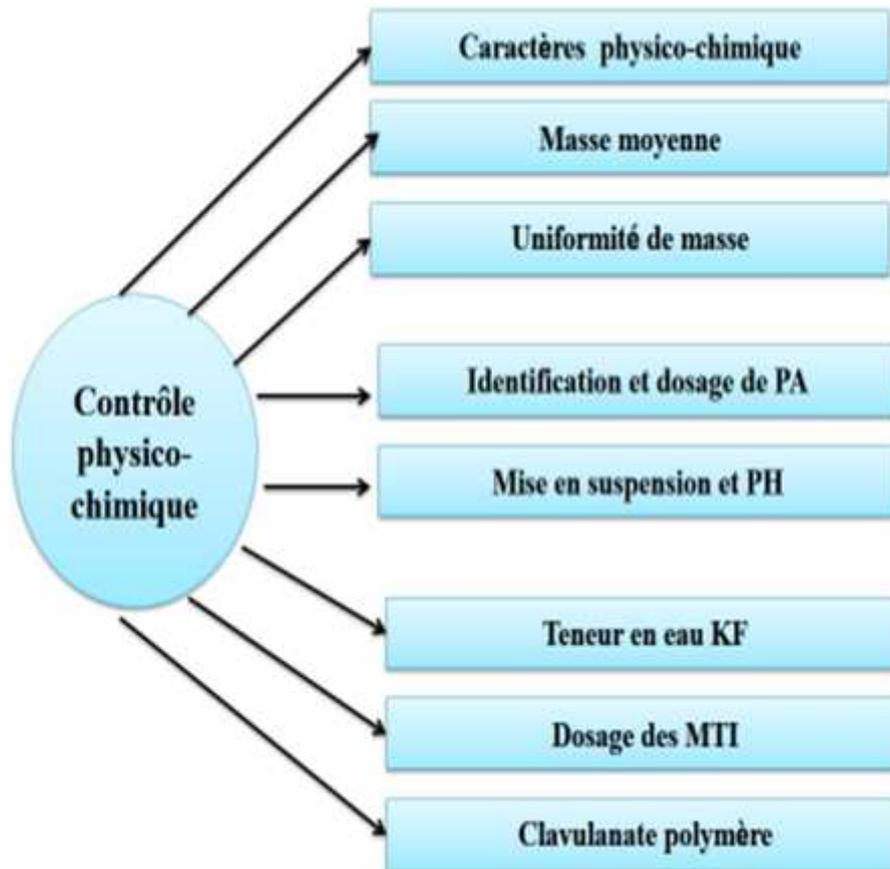


Figure N° 28 : Contrôle physico-chimique d'Augmentin ® sachet 1g/125mg Adulte et 500mg/62.5mg Enfant.

Introduction

Avant toute autorisation de la mise sur le marché (AMM), tous les médicaments sont obligatoirement soumis à des essais de stabilité. Les conditions de ces essais sont standardisées et internationalement reconnues, la durée et les conditions de conservation sont fixées en fonction des résultats de ses essais stabilité.

Notre travail expérimentale a été réalisé au sein du laboratoire contrôle qualité GSK Boudouaou, Boumerdès, sur l'antibiotique Augmentin® Sachet.

Dans ce chapitre nous allons présenter les résultats de cette étude.

1. Résultats de l'étude de stabilité du lot de validation n°607052 d'Augmentin sachet 1g/125mg Adulte (Augmentation du poids du lot)

1.1. Résultats du contrôle physico-chimiques

1.1.1. Résultat du contrôle du Caractère

L'observation visuelle d'un sachet Augmentin 1g/125mg à monter qu'il est formé d'un complexe papier aluminium-polyéthylène bien fermé contenant une poudre jaune pâle d'odeur caractéristique.

1.1.2. Résultat d'identification des principes actifs réalisé par HPLC

Les figures n°29 et n°30 présentent les chromatogrammes du dosage des deux principes actifs l'amoxicilline de la solution standard et essai par ordre, et les tableaux n°16 et n°17 présentent la moyenne des temps de rétention et les aires avec les hauteurs des pics..

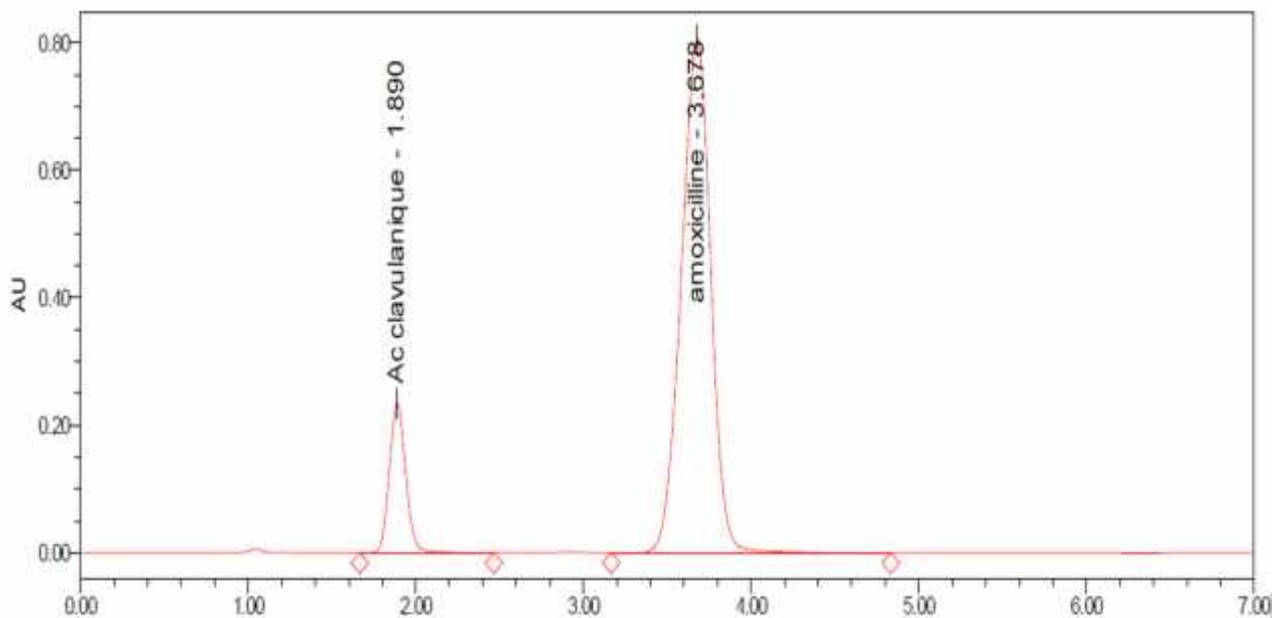


Figure n°29: Chromatogramme d'HPLC du standard de l'amoxicilline et l'acide clavulanique

Tableau n°12 : Résumé Temps de rétention, Surface et hauteur du chromatogramme du standard 1.

Nom du pic	TR	l'air de pic	Hauteur
L'acide clavulanique	1.9	1604666.83	236631
L'amoxicilline	3.7	9851979.41	807745

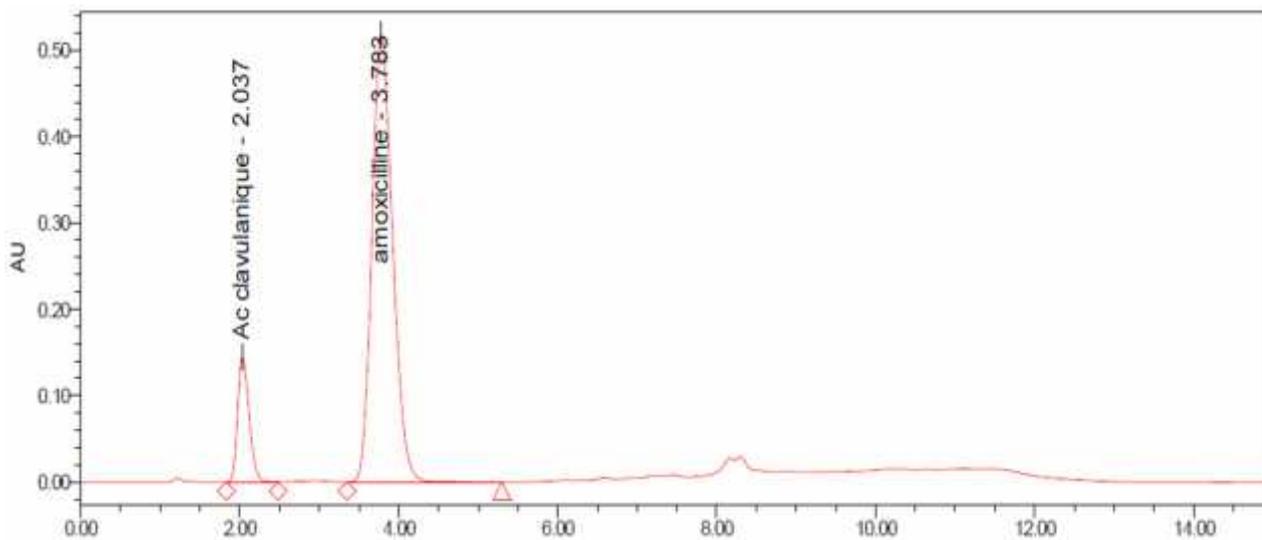


Figure n°30 : Chromatogramme d'HPLC de la solution essai d'Augmentin sachet 1g/125mg

Tableau n°17 : Temps de rétention, Surface et hauteur du chromatogramme des principes actifs de l'échantillon 1

Nom du pic	TR	l'air de pic	Hauteur
L'acide clavulanique	2.037	1458479.23	145177
L'amoxicilline	3.783	9336836.90	517655

Le spectre de la solution essai pour le lot 607051 (Figure n°29) a été comparé avec le spectre du standard (Figure n°30). Les résultats obtenus montrent que les temps de rétention des deux pics dans le chromatogramme de la solution essai du dosage d'Amoxicilline et d'Acide clavulanique sont respectivement égaux à 3.783 min et 2.037 min correspondent avec le pic principal dans le chromatogramme de la solution standard 3.7min et 1.9 min

On conclut en se référant à la pharmacopée 8ème édition que le dosage des deux principes actifs d'Augmentin sachet (Amoxicilline et l'acide clavulanique) satisfait le test d'identification.

1.1.3. Résultat du Dosage des Principes Actifs (Amoxicilline et l'Acide clavulanique en conditions réelles

Tableau n°14 : La variation de la teneur en amoxicilline et la teneur en clavulanate.

Température : 25 ± 2 °C (23 à 27) °C- Humidité : 60 ± 5 % (55 à 65) %						
Temps	Teneur en Amox mg/sch	N Inf**	N Sup*	Teneur en Clavulanate mg/sch	N Inf **	N Sup *
T3R	965	900	1050	119,16	112,5	131,25
T6R	976	900	1050	122,56	112,5	131,25
T9R	971	900	1050	122,42	112,5	131,25
T12R	971	900	1050	122,42	112,5	131,25
T18R	971	900	1050	127,47	112,5	131,25
T pérR	962	900	1050	124,59	112,5	131,25

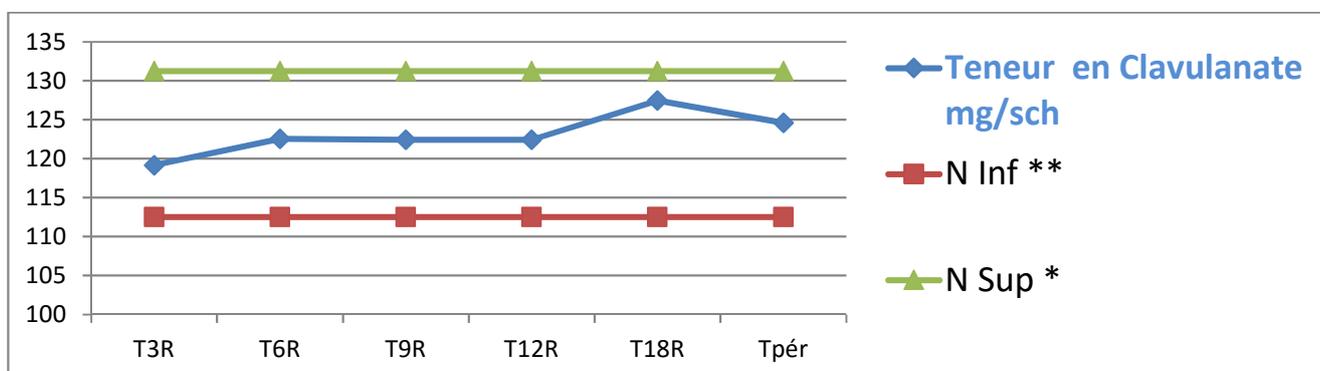
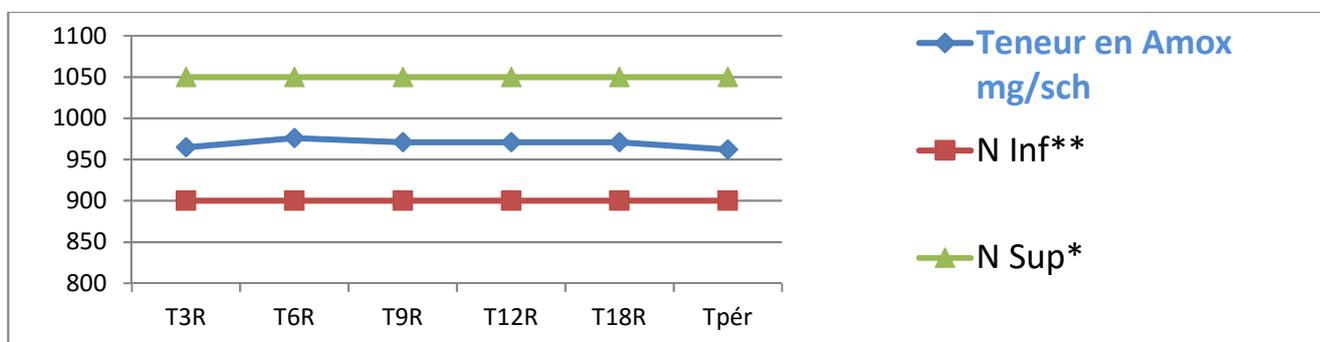


Figure n°31 : La variation de la teneur en principes actifs d'augmentin sachet 1g/125mg dans des conditions réelles.

L'étude des résultats obtenus dans le tableau n°14 et la figure n°31 montre que la teneur en Principe Actif (PA) Amoxicilline et acide clavulanique est conforme aux spécifications pendant toute la période de l'étude réel (T3R, T6R, T9R, T12R, T18R et T_{pr}).

1.1.4. Résultat de Dosage du Principe Actif (Amoxicilline et l'Acide clavulanique en conditions accélérées

Tableau n°15 : la variation de la teneur en amoxicilline et la teneur en clavulanate.

Température : 40 ± 2 °C (38 à 42) °C Humidité : 75 ± 5 % (70 à 80) %						
Temps	Teneur en Amox mg/sch	N Inf**	N Sup*	Teneur en Clavula mg/sch	N Inf **	N Sup *
T3A	950	900	1050	113,84	112,5	131,25
T6A	949	900	1050	113,61	112,5	131,25

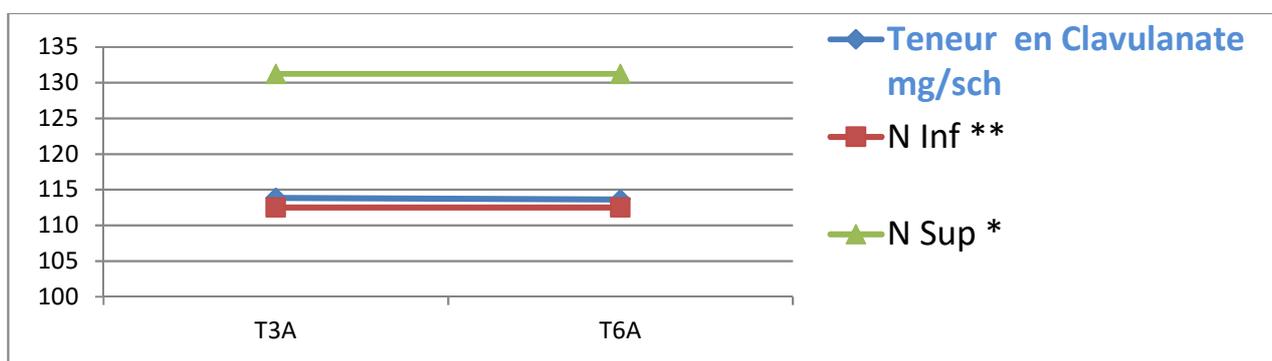
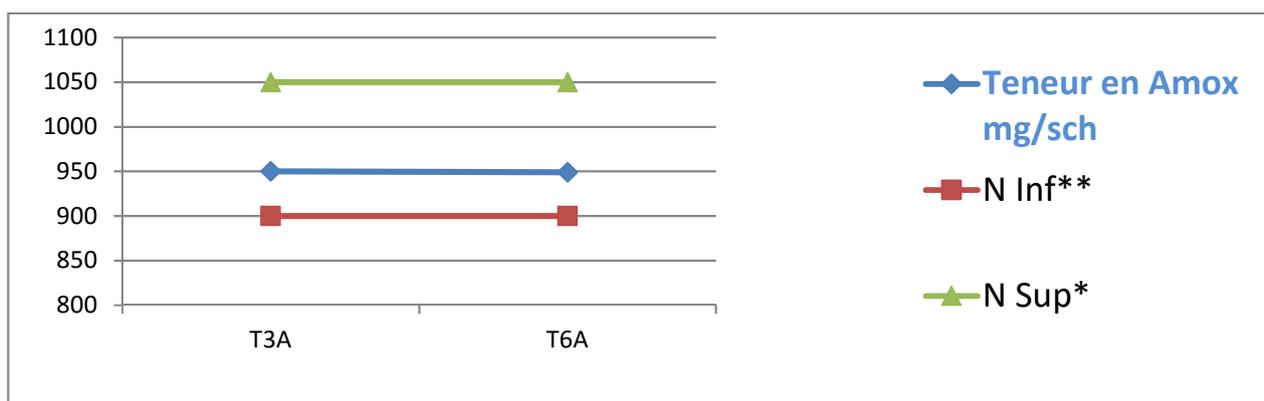


Figure n°32 : la variation de la teneur en principes actifs d'Augmentin sachet 1g/125mg dans des conditions accélérées.

Discussion

L'étude des résultats obtenus dans le tableau n°15 et la figure n°32 montre que la teneur en Principe Actif (PA) Clavulanate est dans la norme pendant toute la période de l'étude réel (T3R, T6R, T9R, T12R, T18R et Tpér) et de l'étude accélérée (T3A et T6A).

Tableau n°16: La masse moyenne des sachets d'Augmentin 1g

N° de lot	Masse moyenne des sachets
607051	1574.23mg

Les résultats figurant dans le tableau ci-dessus permette a nous de constater que la masse moyenne des 20 sachets du lot 607051 égale a : 1574.23mg.

Les résultats de la variation de la masse du produit Augmentin sachet 1g/125mg présentés sur le tableau n°16 montre que la valeur de la masse moyenne durant la période de stockage est très proche de la norme exigée par la société (masse moyenne ciblé 1579±5%). On constate que le médicament est conforme à la spécification ICH. [21]

1.1.5. Aspect de la suspension

L'aspect de la suspension d'Augmentin® sachet 1g/125mg, a été vérifié a l'œil nu, un sachet a été utilisé comme échantillons dans l'eau purifiée. On remarque une suspension homogène de couleur blanche.

1.1.6. Uniformité de masse

La masse des 20 sachets pesés séparément remplis et vides est présentée dans ce tableau.

Tableau n°17 : La masse individuelle des 20 Sachets remplis et vides du lot 607052

	Sachet plein	Sachet vide	Contenu	Moyenne	Min	Max
1	2458.6	877.3	1581.3	1574.23	1500.05	1657.95
2	2417.2	877.6	1539.6			
3	2462.2	872.2	1590			
4	2440.5	871.2	1569.3			
5	2448.2	877.3	1570.9			
6	2423.5	880.4	1543.1			
7	2462.8	883.0	1579.8			
8	2436.2	873.9	1562.3			
9	2437.8	872.7	1565.1			
10	2426.1	875.1	1551			
11	2441.8	877.4	1564.3			

12	2457.8	869.0	1588.8			
13	2427.4	873.6	1553.8			
14	2476.5	871.8	1604.7			
15	2445.7	887.3	1558.4			
16	2520.2	884.5	1635.7			
17	2468.7	886.5	1582.2			
18	2462.3	879.4	1582.9			
19	2395.0	879.5	1515.5			
20	2442.1	876.4	1565.6			

Les résultats figurant dans le tableau ci-dessus présentent les différentes masses obtenues dont :

- La masse individuelle minimale des sachets **remplis** du lot contrôlé (607052) est 2395.0 mg par ailleurs la masse maximale est mg. 2520.2mg
- La masse individuelle minimale des sachets **vides** du lot contrôlé (607052) est 869.0 mg par ailleurs la masse maximale est 887.3 mg.

D'après les tableaux n°17 la masse individuelle des 20 sachets du lot 607052 est de 1574.23mg donc aucun sachet contrôlé ne s'écarter a 5% et de la masse moyenne.

- On conclut alors, que les 20sachets contrôlés ont presque une même masse et donc une même teneur en principe actif pour l'ensemble des sachets du lot testé, donc les résultats satisfont a l'essai d'uniformité de masse.

1.1.7. Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, KF et les produits de dégradation) du lot de validation 607052 d'Augmentin® sachet 1g/125mg dans les conditions réelles

Tableau 18: Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation)

Température : 25 ± 2 °C (23 à 27) °C- Humidité : 60 ± 5 % (55 à 65) %										
	PH			KF			MTI		Polymères de clavulanate	
Temps	PH	N Inf*	N Sup*	KF (%)	N Inf*	N Sup*	MTI (%)	N Sup*	CLAV POLY%	N Sup%
T3R	4.4	4	6	9.9	9.5	11.5	1.5	5	0.02	5.5
T6R	4.4	4	6	10.6	9.5	11.5	1.6	5	0.02	5.5

T9R	4.6	4	6	10	9.5	11.5	1.6	5	0.9	5.5
T12R	4.6	4	6	10	9.5	11.5	1.6	5	0.9	5.5
T18R	4.6	4	6	10.1	9.5	11.5	2.2	5	1.46	5.5
Tpér	4.4	4	6	10.4	9.5	11.5	2.2	5		5.5

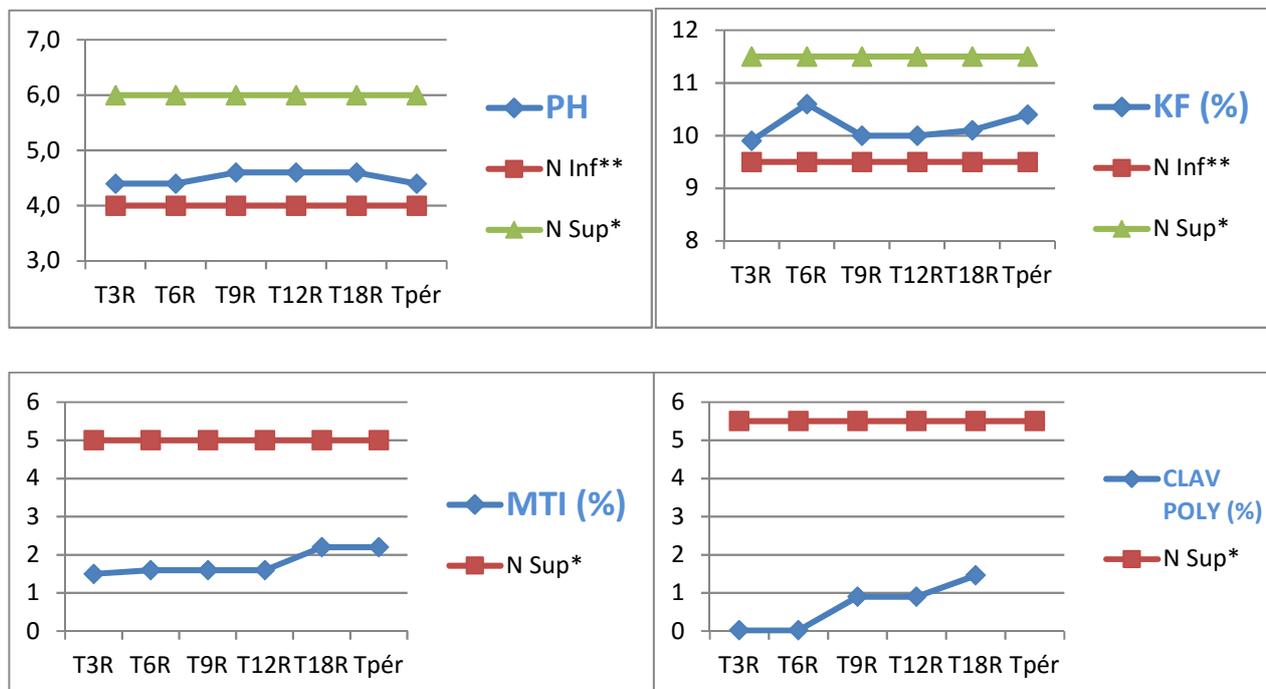


Figure n°33: Tendances de l'étude de stabilité d'Augmentin sachet 1g/125mg dans les conditions réelles

1.1.8. Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, KF et les produits de dégradation) du lot de validation 607052 d'Augmentin sachet 1g/125mg dans les Conditions Accélérées

Tableau N°19 : Résultats des analyses physico-chimiques (pH, KF et les produits de dégradation)

		Température : 40 ± 2 °C (38 à 42) °C					Humidité : 75 ± 5 % (70 à 80) %			
		pH		KF		MTI		Polymères de clavulanate		
Temps	pH	N Inf*	N Sup*	KF (%)	N Inf*	N Sup*	MTI (%)	N Sup*	CLAV POLY%	N Sup%
T3A	4.5	4	6	9.9	9.5	11.5	2.3	5	0.06	5.5

T6A	5.8	4	6	10.2	9.5	11.5	2.4	5	0.1	5.5
-----	-----	---	---	------	-----	------	-----	---	-----	-----

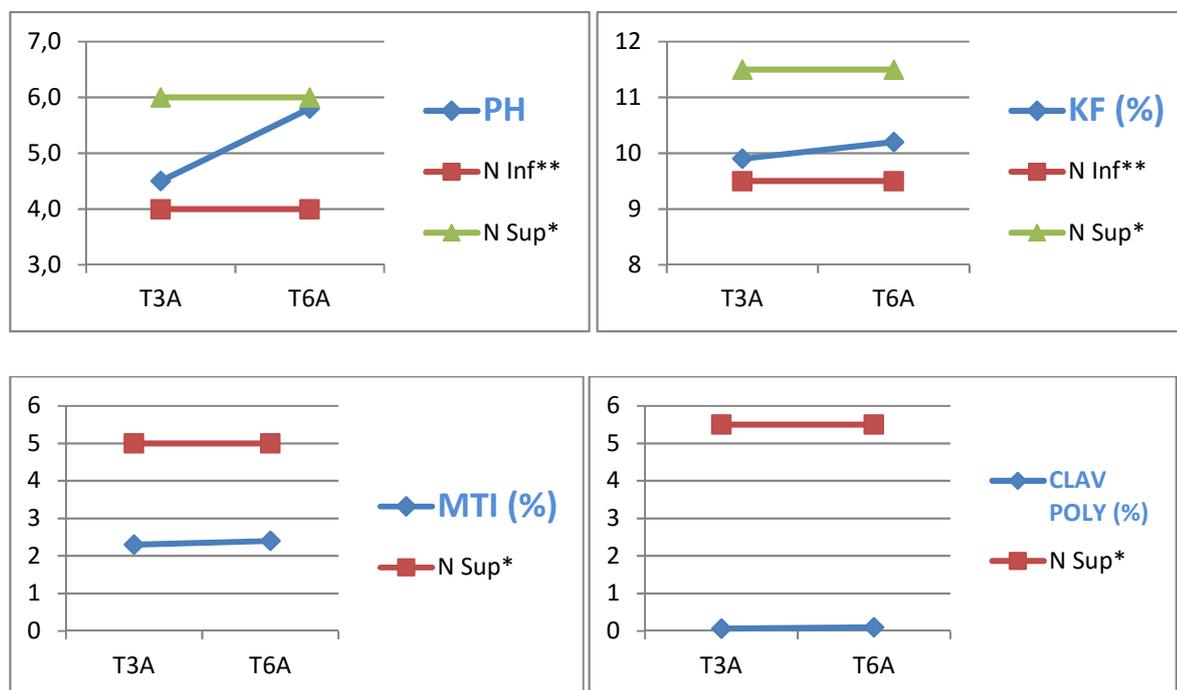


Figure n°34 : Tendances de l'étude de stabilité d'Augmentin sachet 1g/125mg dans les conditions accélérées

Les figures ci-dessus n°34 démontrent que les résultats des différents tests physicochimiques effectués sur le produit Augmentin sachet 1g/125mg dans différentes conditions réelles et accélérées (le dosage des deux principes actifs « l'amoxicilline et l'acide clavulanique » le PH, la teneur en eau ainsi que les produits de dégradation MTI et clav polymère) sont dans les normes exigées par la pharmacopée européenne.

1.2. Résultats des Tests microbiologiques

L'origine de la contamination bactérienne est multiple : elle peut provenir de la matière première, des étapes de fabrication, du conditionnement ou même du stockage. C'est pour cela que des tests microbiologiques sont effectués à différent stade du processus de production. Au vu des résultats des ensemencements, on constate l'absence totale de bactéries :

Entérobactéries, bactéries à gram négatif résistantes aux sels biliaires, Escherichia coli, Salmonelles, et de Staphylococcus aureus. Ces résultats (tableau n°20) montrent

que l'Augmentin sachet 1g/125mg ne renferme aucun germe dans l'ensemble des échantillons analysés, ce qui est conforme aux exigences établis par la pharmacopée européenne et celles adoptées par le laboratoire contrôle qualité « GSK ».

Tableau 20 : Résultats des tests microbiologiques.

Type de bactérie	Résultat	Norme
DMLT	Négatif	100 ufc /g
DGAT	Négatif	1000 ufc /g
Entérobactéries et bactéries à gram négatif résistantes aux sels biliaires	Négatif	100 ufc /g
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	Absence / g
<i>Salmonelles</i>	Négatif	Absence /10 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Négatif	Absence / g

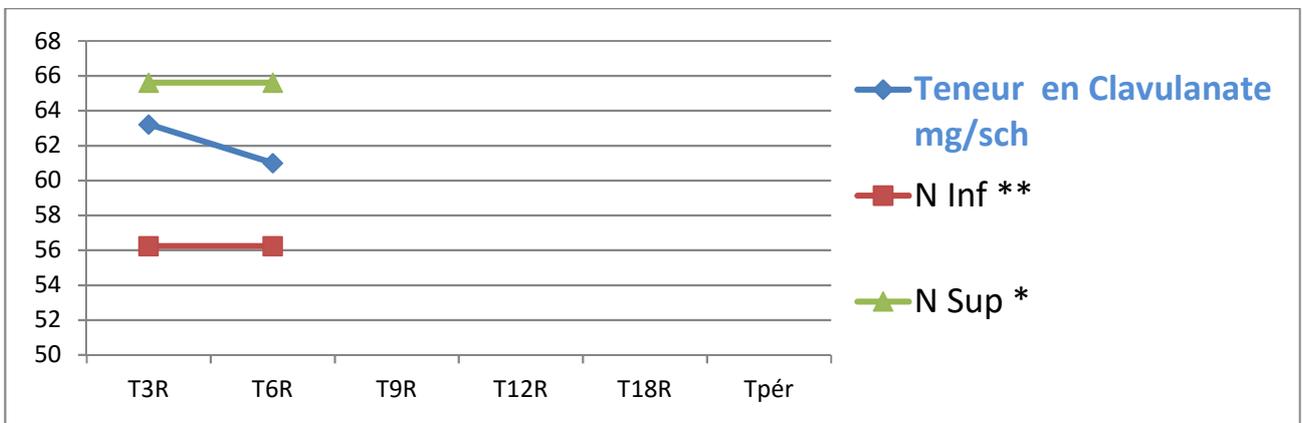
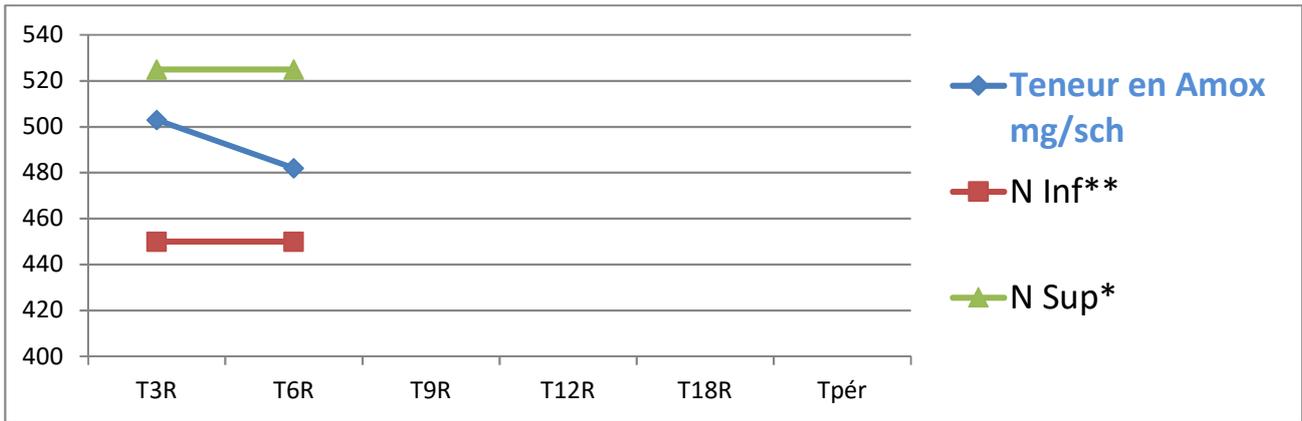
2. Résultats de l'étude de la stabilité pour la validation d'Augmentin® sachet dose 500mg/62.5mg enfant (nouvelle dose)

2.1. Résultat du dosage des Principes Actifs (Amoxicilline et l'Acide clavulanique) des lots 808001-808002-808004 d'Augmentin® d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles.

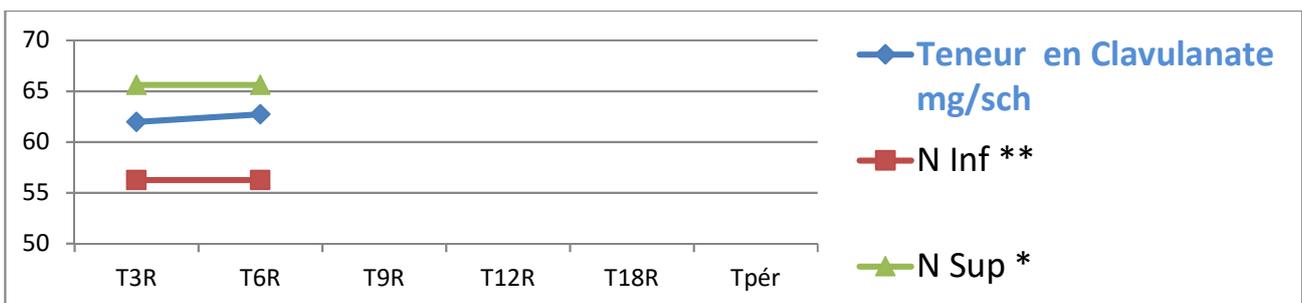
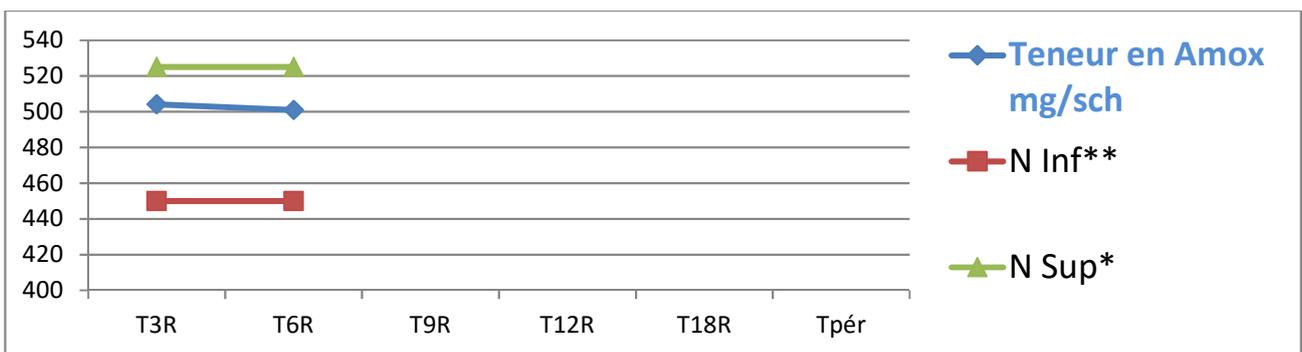
Tableau n°21 : la variation de la teneur en Amoxicilline et la teneur en clavulanate dans les conditions réelles.

Température : 25 ± 2 °C (23 à 27) °C et humidité : 60 ± 5 % (55 à 65)%							
	Temps	Teneur en Amox mg/sch	N Inf**	N Sup*	Teneur en Clavulanate mg/sch	N Inf **	N Sup *
Lot N°808001	T3R	503	450	525	63,22	56,25	65,62
	T6R	482	450	525	61,01	56,25	65,62
Lot N°808002	T3R	504,11	450	525	61,98	56,25	65,62
	T6R	501	450	525	62,72	56,25	65,62
Lot N°808004	T3R	492	450	525	61,41	56,25	65,62
	T6R	496	450	525	62,71	56,25	65,62

Lot n° :808001



Lot n°: 808002



Lot n° : 808004

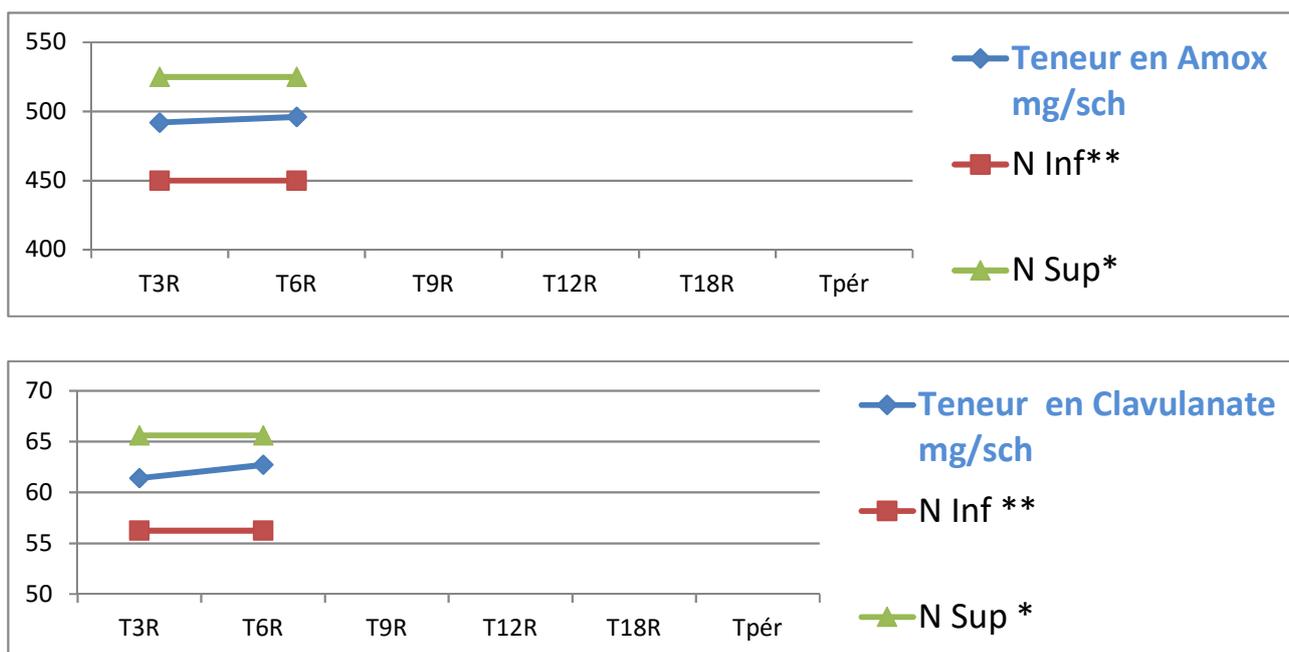


Figure n° 35 : la variation en teneur des principes actifs des lots 808001-808002-808004 d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles.

Discussion :

L'étude des résultats obtenus dans le tableau n°21 et la figure n°35 montre que la teneur en Principe Actif (PA) Clavulanate est initialement dans la norme durant la première et la deuxième période de l'étude réel (T3R, T6R) cette étude est incomplète car elle est en cours d'excursions. Les analyses du T9R, T12R, T18R, Tpér seront effectuées après la date limite de notre stage.

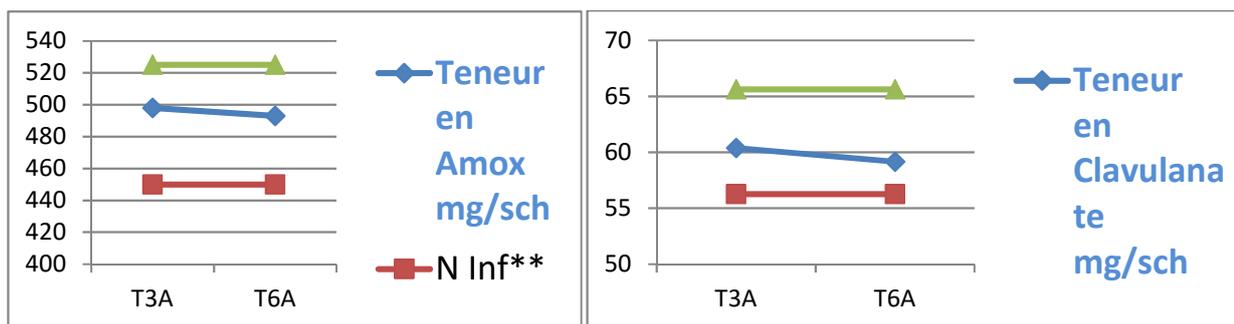
2.2. Résultat du dosage des Principes Actifs (Amoxicilline et l'Acide clavulanique) des lots 808001-808002-808004 d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les conditions accélérées.

Tableau n°22 : la teneur en principes actifs (amoxicilline et l'acide clavulanique) les Conditions accélérées

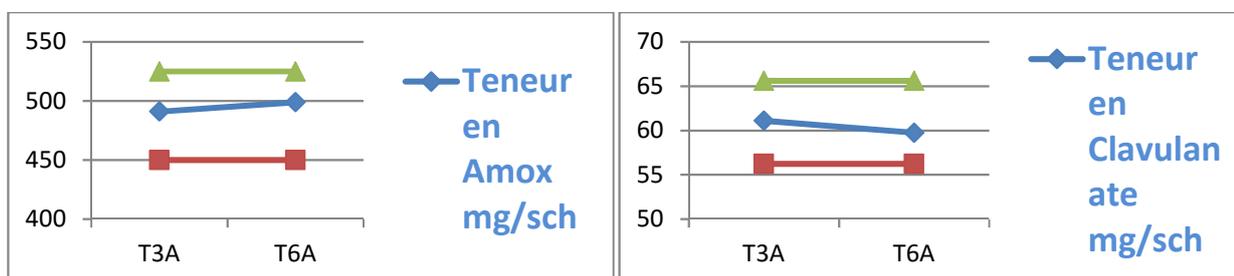
		Température : 40 ± 2 °C (38 à 42) °C			Humidité : 75 ± 5 % (70 à 80) %		
	Temps	Teneur en Amox mg/sch	N Inf**	N Sup*	Teneur en Clavulanate mg/sch	N Inf **	N Sup *
Lot N°808001	T3A	498	450	525	60,38	56,25	65,62
	T6A	493	450	525	59,15	56,25	65,62

Lot N°808002	T3A	491	450	525	61,11	56,25	65,62
	T6A	499	450	525	59,75	56,25	65,62
Lot N°808004	T3A	496	450	525	62,6	56,25	65,62
	T6A	494	450	525	59,51	56,25	65,62

Lot n° : 808001



Lot n° :808002



Lot n° :808004

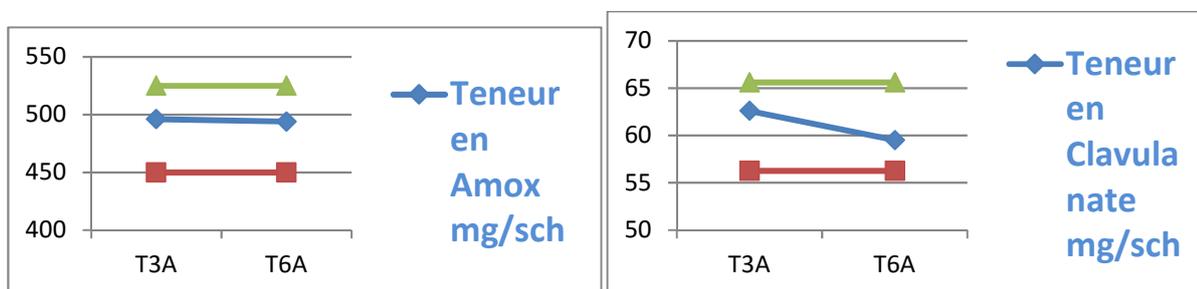


Figure n° 36 : la variation en teneur des principes actifs des lots 808001-808002-808004 d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les conditions accélérées.

Discussion

L'étude des résultats obtenus dans le tableau n°22 et la figure n°36 montre que la teneur en Principe Actif (PA) Clavulanate est dans la norme pendant toute la période de l'étude accélérée (T3A et T6A).

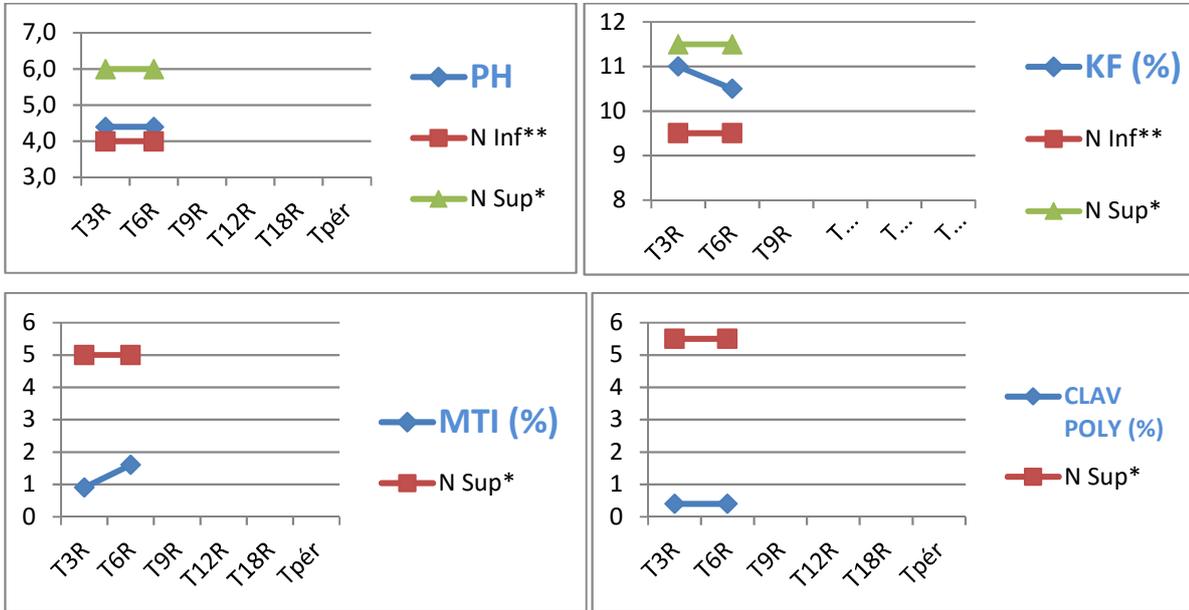
2.3. Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation) des lots 808001-808002-808004 d' Augmentin® sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles

Tableau n°23. Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation) des lots 808001-808002-808004 d' Augmentin® sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles.

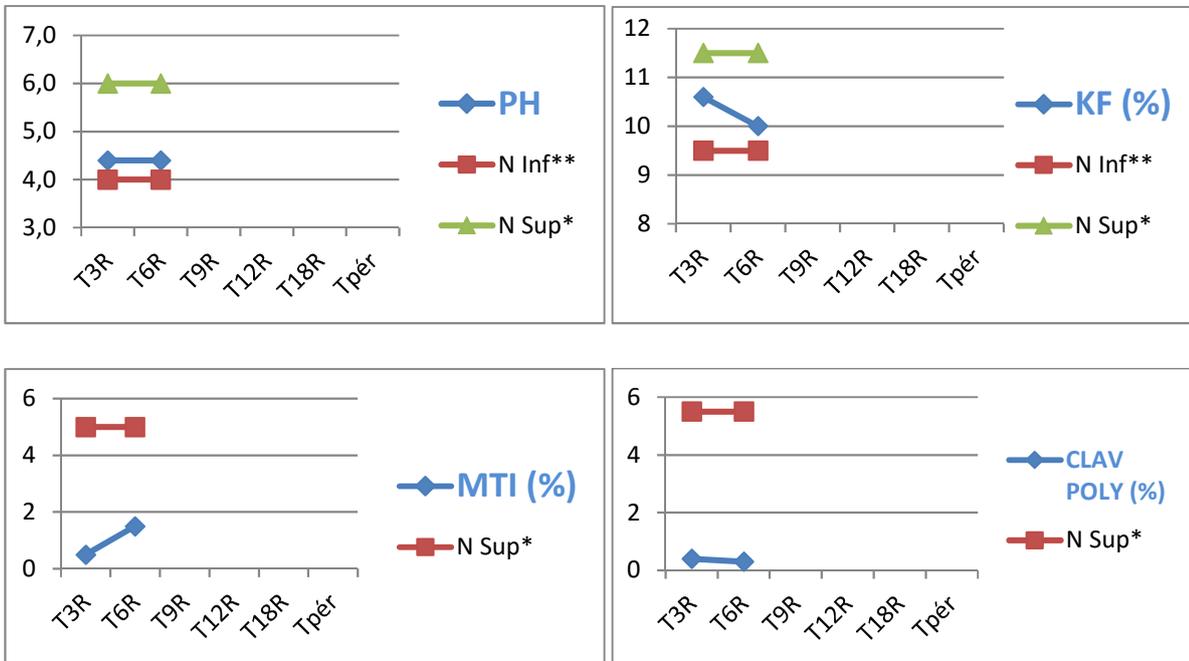
Température : 25 ± 2 °C (23 à 27) °C et humidité : 60 ± 5 % (55 à 65)%											
N° Lot	Temps	PH			KF			MTI		Polymères de clavulanate	
		PH	N Inf*	N Sup*	KF (%)	N Inf*	N Sup*	MTI (%)	N Sup*	CLAV POLY%	N Sup%
808001	T3R	4,4	4,0	6,0	11	9,5	11,5	0,9	5	0.4	5,5
	T6R	4,4	4,0	6,0	10,5	9,5	11,5	1,6	5	0.4	5,5
	T9R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
	T12R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
	T18R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
	Tpér		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
808002	T3R	4,4	4,0	6,0	10,6	9,5	11,5	0,5	5	0,4	5,5
	T6R	4,4	4,0	6,0	10	9,5	11,5	1,5	5	0,3	5,5
	T9R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
	T12R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
	T18R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
	Tpér		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
808004	T3R	4,4	4,0	6,0	10,6	9,5	11,5	0,9	5	0,5	5,5
	T6R	4,4	4,0	6,0	10,2	9,5	11,5	1,5	5	0,4	5,5
	T9R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
	T12R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5
	T18R		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5,5

	Tpér		4,0	6,0		9,5	11,5		5		5.5
--	------	--	-----	-----	--	-----	------	--	---	--	-----

Lot n° : 808001



Lot n° :808002



Lot n° :808004

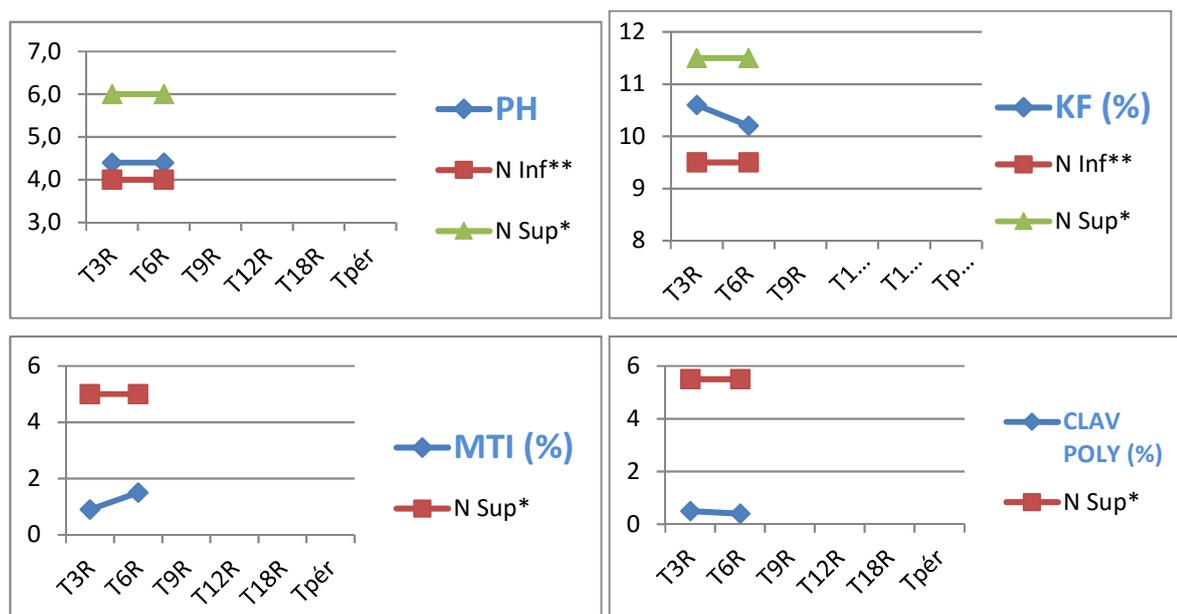


Figure n° 37 : Tendence de l'étude de stabilité dans les conditions réelles d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg des trois lots de validation N°808001-808002-808004

Discussion

Les figures ci-dessus démontrent que les différents paramètres étudiés (PH, la teneur en eau ainsi que les produits de dégradation) d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg dans les :

Conditions réelles : Température : 25 ± 2 °C (23 à 27) °C Humidité : 60 ± 5 % (55 à 65)%

Reste initialement stable durant la première et la deuxième période de l'étude réel (T3R, T6R) cette étude est incomplète car elle est en cours d'excursions. Les analyses du T9R, T12R, T18R, Tpér seront effectuées après la date limite de notre stage.

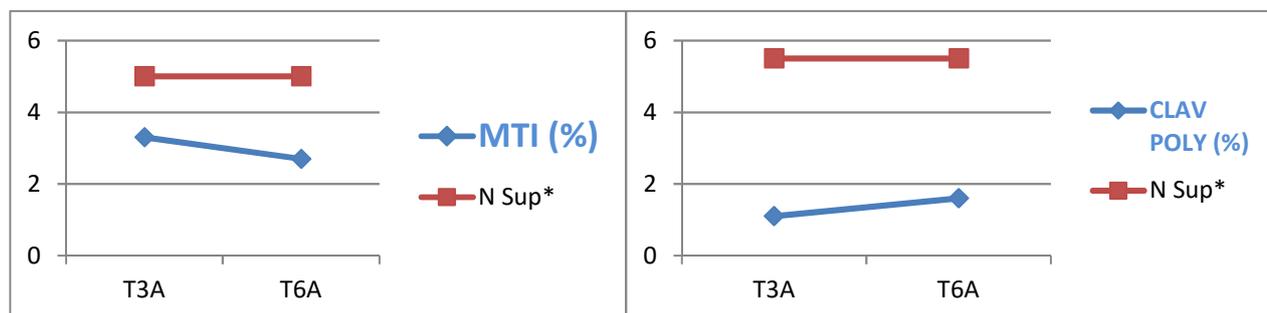
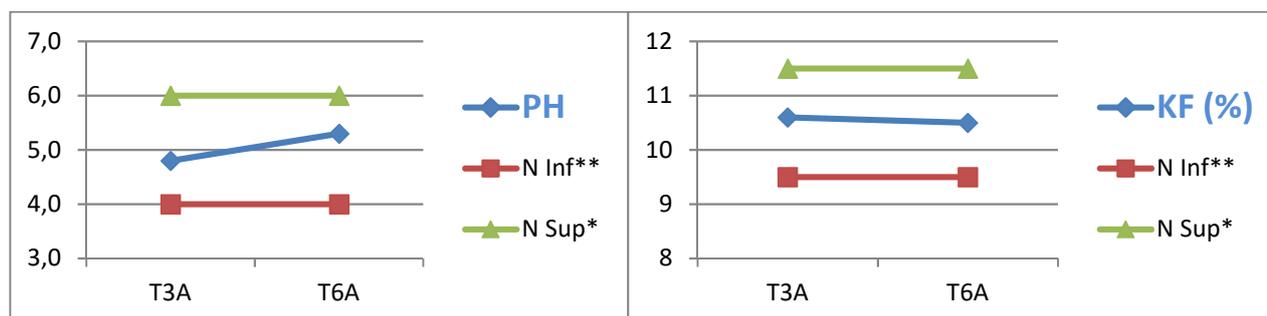
2.4. Résultat du dosage des Principes Actifs (Amoxicilline et l'Acide clavulanique) des lots 808001-808002-808004 d' Augmentin® sachet 500mg/62.5mg dans les conditions réelles.

Tableau n°24 : Résultats des analyses physico-chimiques (PH, KF et les produits de dégradation) des lots 808001-808002-808004 d' Augmentin® sachet 500mg/62.5mg dans les conditions accélérées.

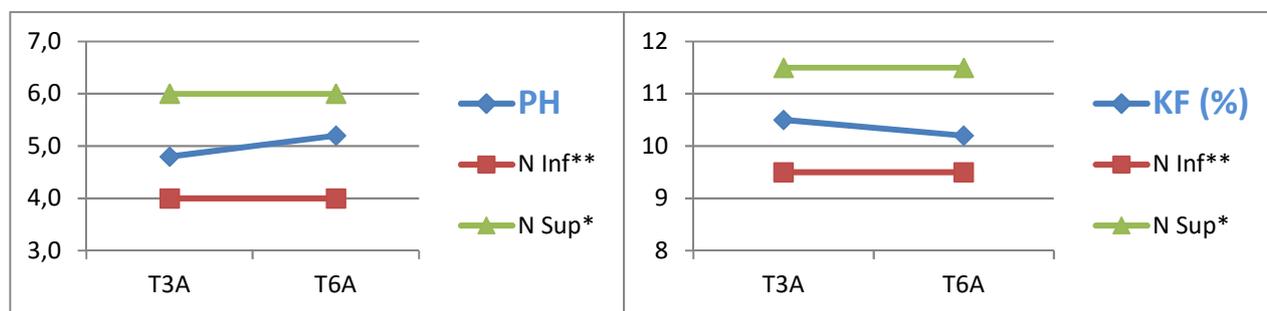
		Température : 25 ± 2 °C (23 à 27) °C et humidité : 60 ± 5 % (55 à 65)%									
		PH		KF		MTI		Polymères de clavulanate			
N° Lot	Temps	PH	N Inf*	N Sup*	KF (%)	N Inf*	N Sup*	MTI (%)	N Sup*	CLAV POLY%	N Sup%

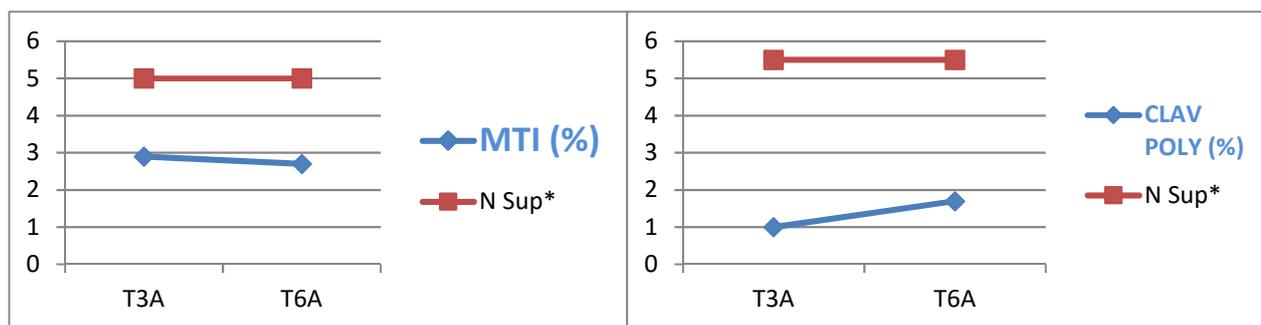
808001	T3A	4,8	4,0	6,0	10,6	9,5	11,5	3,3	5	1,1	5,5
	T6A	5,3	4,0	6,0	10,5	9,5	11,5	2,7	5	1,6	5,5
808002	T3A	4,8	4,0	6,0	10,5	9,5	11,5	2,9	5	1	5,5
	T6A	5,2	4,0	6,0	10,2	9,5	11,5	2,7	5	1,7	5,5
808004	T3A	4,8	4,0	6,0	10,9	9,5	11,5	3,1	5	1,2	5,5
	T6A	5,3	4,0	6,0	10,1	9,5	11,5	2,7	5	1,7	5,5

Lot n° 808001 :



Lot n° : 808002





Lot n° :808004

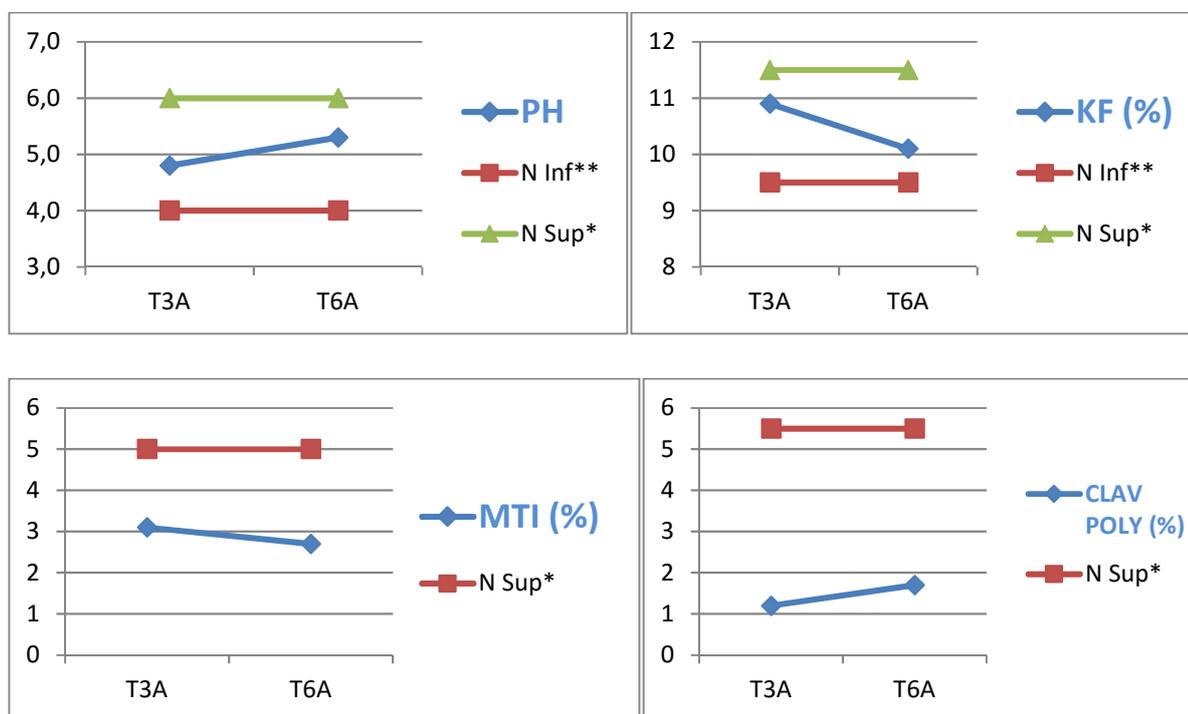


Figure n° 38 : Tendance de l'étude de stabilité dans les conditions réelles d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg des trois lots de validation N°808001-808002-808004

Discussion

Les figures ci-dessus démontrent que les différents paramètres étudiés (pH, la teneur en eau ainsi que les produits de dégradation) d'Augmentin sachet dans différentes Conditions Accélérées : Température : 40 ± 2 °C (38 à 42) °C Humidité : 75 ± 5 % (70 à 80) % , restent stable . Bien qu'il y ait des petites variations dans les différents paramètres physico-chimiques analysés qui restent dans les normes.

Les résultats obtenus des différents tests effectués sur 6mois d'étude de stabilité dans les conditions accélérées $40C^{\circ} \pm 2^{\circ}C$ et $75\% \pm 5\%HR$, montrent que le produit (Augmentin® sachet

500mg/62.5) est conforme à la norme exigé par la pharmacopée européenne 8ème édition
Contrairement à l'étude à long terme effectué dans les conditions réels $25C^{\circ}\pm 2^{\circ}C$ et $60\%\pm 5\%HR$
qui est en court d'exécution(incomplète)

Conclusion

L'antibiotique Augmentin[®] sachet (1g/125mg adulte et 500mg/62.5mg enfant) a été étudié en
stabilité dans les conditions accélérées et réelles afin d'assurer sa conformité par rapport aux
normes exigées par la réglementation et les référentiels de l'industrie pharmaceutique.

Cette étude a donné les résultats suivants :

- L'aspect et la couleur restent conformes aux spécifications définies.
- Le test de pH, teneur en eau sont conformes aux spécifications définies.
- Le dosage des deux principes actifs « amoxicilline », « clavulanate » restent conforme aux spécifications définies.
- Le contrôle des produits de dégradation (clav polymère et MTI) reste conforme aux spécifications définies.
- Le contrôle microbiologique reste conforme aux spécifications définies.
- ❖ Aucune investigation analytique n'a été identifiée au cours de la durée de validité de l'antibiotique.
- ❖ Les contrôles de L'échéance TR9 TR12 TR18 mois pour Augmentin[®] sachet 500mg/62.5mg enfant n'ont pas été effectués, car ils dépasseront la date limite de notre stage.
- ❖ On peut conclure que le lot N°607052 d'Augmentin[®] 1g /125mg sachet-dose adultes ainsi que les trois lots (808001-808002-808004) d'une nouvelle dose d'Augmentin sachet 500mg/62.5mg enfant : sont stables durant leur période de validité pour les paramètres contrôlées (caractères, pH, coloration, dosages des principes actifs ainsi que recherche des germes spécifiques).

Conclusion générale

Les résultats, de notre étude de stabilité réalisée sur un lot de validation N° 607052 d'Augmentin adulte, sachet 1g/125mg, démontrent que les différents tests physicochimiques et microbiologiques dans les conditions réelles: Température : 25 ± 2 °C (23 à 27)°C, Humidité: 60 ± 5 % (55 à 65) % et Accélérées Température : 40 ± 2 °C (38 à 42) °C Humidité : 75 ± 5 % (70 à 80) % sont conformes aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne 8ème édition. Ceci a permis d'établir les conditions de stockage et justifier la durée de validité proposée pour le produit dans son conditionnement commercial qui est de 24 mois.

Aussi, les résultats de l'étude de stabilité accélérée, établie sur les trois lots (808001-808002-808004) de validation de la nouvelle dose d'Augmentin enfant, sachet 500mg/62.5mg, dans le but d'effectuer une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) Algérien, sont conformes pendant toute la période d'études. Les résultats de l'étude effectuée dans les conditions réelles (Temps3 Réel, Temps6 Réel) sont initialement dans la norme ; Bien qu'il-y ait eu des petites variations dues à l'efficacité de la colonne HPLC, influencée par la diminution du nombre de plateaux.

Puisque les résultats des études à long terme et accélérées ne montrent pas, ou peu, de changements, les études statistiques ne sont pas nécessaires, dans ce cas. Le temps, pour atteindre la date de péremption, peut être deux fois plus important que la durée de l'étude à long terme ou bien peut être au maximum de douze mois de plus que la durée de l'étude à long terme.

En perspective, l'optimisation de la méthode d'étude de la stabilité devra passer par l'utilisation d'une nouvelle colonne Chromatographique et/ou sa revalidation pour modifier la phase stationnaire ce qui conduit à l'augmentation du nombre de plateaux théorique, qui améliorera le rendement de la colonne pour avoir une meilleure séparation des composés. Cela est nécessaire pour l'amélioration, la sensibilité et la diminution du temps de l'analyse.

- [1] Stellman. J. (1998). *Encyclopédie de sécurité et de santé au travail. Chapitre 79: L'industrie pharmaceutique. Volume 3.*
- [2] GlaxoSmithKline. (2014). *Documentation interne : procédure de prélèvement US-Qual039/002*
- [3] *Bonnes pratiques dans les laboratoires* .www.cvo-europe.com consulté le 15/03/2019
- [4] Garcia,C.(2001). *Le médicament. Thèse de droit privé soutenue à l'université des sciences sociales Toulouse I.*
- [5] Denine,R.(2014). *Cours de pharmacie Galénique* .office des publications universitaires.
- [6] *Consommation des antibiotiques dans le monde: l'Algérie dans le top 5.* Www.Algerie360.com consulté 25/06/2019
- [7] *Algérie – La facture des importations de produits pharmaceutiques en hausse de 10% en 2014.* Www.maghrebemergent.info consulté le 20/06/2019
- [8] Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.(2016). www.ansm.sante.fr consulté le 02/06/2019
- [9] Nedjar, A., Bougeuzzana, N. (2016). *Etude de stabilité clamoxil 1g comprimé dispersible. Mémoire de master.génie des procédés organiques et macromoléculaires. Université de M'hamed Bougara.Boumerdes.*
- [10] Seba .R et Lounaci .A. *Contrôle de qualité et de stabilité d'un produit pharmaceutique, Augmentin poudre pour suspension buvable 60 ml. Université M'hamed Bougara de Boumerdès, Faculté des sciences, Département de Biologie. Mémoire de master.*
- [11] *Composition du médicament.* Www.wikiversity.org. Consulté le 21/05/2019
- [12] Aiache, J-M., Beyssac, E., Cardot, J-M., Hoffart, V., Renoux, R. (2001). *Initiation à la connaissance du médicament. Paris Masson.337.*
- [13] *Pharmaciens Sans Frontières Comité-International Unité Pharmaceutique (2004).Notions de base sur les médicaments.*
- [14] *Journal officiel de la république Algérienne N°53.(1992). Article.Décret exécutif n° 92-284 relatifs à l'enregistrement des produits pharmaceutiques à usage de la médecine humaine, p. 1201.*
- [15] Robert, H.(2013). *Substance naturelle, drogue et médicament*
- [16] OMS, *Guide sur l'accès aux traitements liés au VIH/Sida - Recueil d'informations, d'outils et de références à l'intention des ONG, des organisations communautaires (OC) et des groupes de PVS - Chapitre 3.2.E.*
- [17] Miri.F.(2014). *Enregistrement d'un médicament générique fabriqué en Alger enregistrement d'un médicament générique fabriquée en Algérie: Aspect technico-réglementaire du contrôle qualité. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen Faculté de Technologie Mémoire de Master en Pharmacie Industrielle.*

- [18] *Initiation a la connaissance du médicament.* www.decitres.fr consulte le 15/03/2019
- [19] Boulanger.T. (2014).*Les Formes Pharmaceutiques et les voies d'administration. Pharmacie Galénique.*
- [20] Calop, J., Limat, S., Fernandez, C., Aulagner, G. (2012). *Pharmacie clinique et thérapeutique. 4ème édition : Elsevier Masson, Paris.1336 p.*
- [21] Rebiere, H., Mazel, B., Civade, C., Bonnet, P-A. (2007). *Determination of 19 antiretroviral agents in pharmaceuticals or suspected products with two methods using high-performance liquid chromatography. Journal of chromatography.B, 850,(1): 376-383.*
- [22] *La fabrication de médicaments': www.leem.org/article/fabrication consulté le (20/02/2019)*
- [23] OMS : *organisation mondiale de la santé.(1986). accelerted stability studies of widely used pharmaceutical substances Under simulated tropical conditions, Genève.*
- [24] Conte.L.(2003).*validation des procédés de nettoyage : application à un cas concret dans l'industrie pharmaceutique.Thèse de Doctorat en Pharmacie. univ-lorraine.*
- [25] *Quality Assurance of Medicines Terminology Database.www.who.int/medicines consulté le (25/02/2019)*
- [26] Sennoun, R.(2012). *Relations de l'ICH Q10 « Système qualité pharmaceutique » avec les standards ISO, les GMP et son application chez SGS Life Science Services. Thèse de doctorat. Université de lorraines.Facultés de pharmacie.*
- [27] *L'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), (2016) FAQ BPL.*
- [28] Dublanchet.A,(2009). *Des virus pour combattre les infections. La phagothérapie : renouveau d'un traitement au secours des antibiotiques.Editions Favre, Lausanne (Suisse)*
- [29] *International Conference On Harmonization.(2008).M4 guideline Les référentiels de l'industrie pharmaceutique).*
- [30] *La pharmacopée européenne.(2008).Sixième édition ; tome I*
- [31] Mainardi, J-L. (2013). *Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques/ Session interactive autour de l'antibiogramme. Faculté et Université Paris René Descartes. 112p.*
- [32] *Mise au point de médicaments. www.animalresearch.info consulté le (16/03/2019)*
- [33] *Les-medicaments-surveillés-tout-au-long-de-leur-vie. www.industriepharma.fr consulté le 13/04/2019*
- [34] Amroun, T.(2012).*Etudes de stabilité des deux principes actifs : captopril et hydrochlorothiazide (50 ; 25mg) dans le médicament Saipril plus. ® forme comprimée. Thèse de Magister. Université de M'hamed Bougara.Boumerdes.*
- [35] Wehrle.P.(2008).*Pharmacie Galénique :Formulation et technologie pharmaceutique,Maloine.*

- [36] Lekknouche N. Et Kaad H(2017). *Etude de stabilité d'un produit fini dans les conditions accélérées et réelles*. Master en Sciences biologiques. Université Frères Mentouri Constantine.
- [37] *Gide des médicaments*. www.doctissimo.fr. Consulté le (04/03/2019)
- [38] Le Hir, A. (2001). *Abrégés de pharmacie galénique : Bonnes Pratiques de fabrication des médicaments*. 8ème édition : Masson, Paris. 395p.
- [39] Beniaich, G.2009. *Etude de stabilité de l'amoxicilline et l'acide clavulanique*. Mémoire fin d'étude Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques.
- [40] Nicolle, I. (1998). *Dates limites d'utilisation des médicaments*. Bulletin CRIM.
- [41] Mahyoob.M.Ahmed Siaf.A.Alwan Noman.M. (2013). *Stabilité study of six brands of Amoxicillin Trihydrate and Acid Clavulanic oral suspension*. Sana'a University, Yemen .
- [42] Addotey.J,Yeboah.L,Adosraku.A.(2014) *Stability studies on reconstitué Amoxicillin Clavulanic Acid Oral Powder by HPLC method développement and quantification*, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana.
- [43] Abbou.S .(2016).« *Etude de stabilité et contrôle qualité sur Augmentin PPSB 60ml* »Université de Abderahman Mira de Bejaia.
- [44] GlaxoSmithKline. (2016). *Documentation interne : procédure microbiologie*
- [45] GlaxoSmithKline. (2011). *Direction de la Communication GSK/Carré Noir*.
- [46] (Makedhi M. (2005). *GlaxoSmithKline Lancement de l'usine d'antibiotiques de Boudouaou*. El Watan.
- [47] GlaxoSmithKline. (2012). *Documentation GlaxoSmithKline : dossier pharmaceutique d'Augmentin sachet 1g/125mg*
- [48] *Pharmacopée européenne*.(2017). 9ème édition.
- [49] GlaxoSmithKline . (2019).*Notice d'Augmentin sachet 1g/125mg adulte*. (2019)
- [50] GlaxoSmithKline. (2014). *Documentation interne : procédure de prélèvement US-Qual039/002*
- [51] GlaxoSmithKline. (2019). *Documentation interne : procédure étude de stabilité LAB-019/02*.
- [52] GlaxoSmithKline. (2019). *Documentation interne : procédure contrôle qualité Augmentin sachet 1g/125mg et 500/62.5mg Us-Mc-056/01*.
- [53] GlaxoSmithKline (2019).*Documentation interne GSK: procédure dosage de l'amoxicilline et acide clavulanique*.
- [54] GlaxoSmithKline. (2019). *Documentation interne : procédure d'étalonnage et d'utilisation du titrateur Karl Fisher DL38*.
- [55] GlaxoSmithKline. (2019). *Documentation interne : procédure d'étalonnage d'une chaîne HPLC*.

- [56] Shen, Y., Smith, R-D. (2008). *Electrophoresis, Hight Performance Liquid Chromatography*. Canada : Wiley-Interscience. 1104 p.
- [57] GlaxoSmithKline. (2019). *Documentation interne : procédure dosage MTI US-Dc-043/002*.
- [58] GlaxoSmithKline. (2015). *Documentation interne : procédure dosage des claves polymères*.
- [59] Agence Française de Normalisation, *Recueil de normes AFNOR*, www.iso.org consulté le 03/06/2019.
- [60] *Norme Internationale ISO 9000v (2005).Vocabulaire*.
- [61] *Rapport sectoriel Industrie Pharmaceutique*. www.mdipi.gov.dz. consulté le 10/06/2019.

Annexe 1 : La qualité

-Selon l'AFNOR (ISO 8402), la qualité est « l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou d'un service qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites » [59]

- La norme ISO précise encore qu'il s'agit de « l'aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire les besoins des utilisateurs » [60]

Pour un médicament, la qualité est définie dans son dossier d'A.M.M. (Autorisation de Mise sur le Marché).

- Selon le Professeur A. LE HIR, la qualité du médicament peut se décomposer en deux parties:

La Qualité Santé Publique : est celle décrite dans le dossier d'A.M.M. Elle concerne les éléments intervenant dans l'efficacité, l'innocuité, la stabilité, ...etc.

La Qualité Commerciale : elle englobe toutes les caractéristiques qui ne figurent pas au dossier. Il s'agit aussi bien de la couleur des étuis que des délais de livraison...etc [61].

Annexe 2

Prédiction de la durée de validité

1. Loi d'ARRHÉNIUS:

Pour pouvoir prédire la durée de validité d'un médicament on doit suivre les étapes suivantes:

- Détermination de l'ordre de la réaction de dégradation.
- Evaluation de la variation de la vitesse en fonction de la température.
- Extrapolation de la vitesse de dégradation à température réelle en utilisant la loi d'Arrhenius
- Déduction de la durée de validité à T= 25°C

2. DÉTERMINATION DE L'ORDRE DE LA RÉACTION :

- Étude de l'évolution de la [PA] en fonction du temps et à T° constante
- Tracer la courbe [PA] =f (t)
- Plusieurs tracés sont possibles. La vitesse V est exprimée par l'équation suivante :

$$V = - dC / dt = K .C.n$$

dC : quantité de produit transformé dans l'intervalle de temps dt.

C : concentration au temps t de la substance active.

K : constante de vitesse, exprime la rapidité de la réaction de dégradation.

n: ordre de la réaction

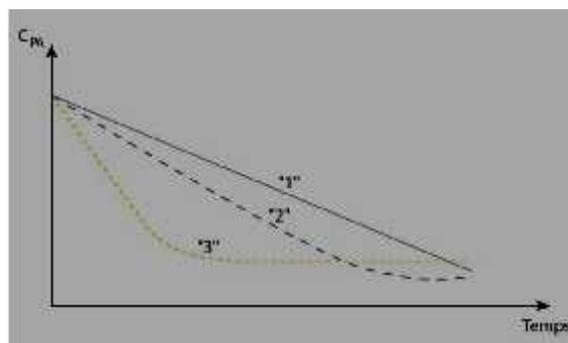


Figure n°39: courbe d'évolution de la [PA] en fonction du temps et à T° constante

➤ **ORDRE ZÉRO: (TRACÉ 1)**

- Si $n = 0$: $-dC / dt = K$ (constante)

- ✓ La vitesse de réaction est indépendante de la concentration de la substance étudiée :

$$V = \text{constante} = K \text{ pente de la courbe}$$

- ✓ En intégrant cette équation, on obtient l'équation du graphe $C=f(t)$, qui est une droite

$$C = C_0 - K t$$

C_0 et C : concentration en PA aux temps (t_0) et (t).

K : constante de vitesse (pente de la droite)

➤ **ORDRE 1: 2eme tracé (asymptote)**

- ✓ la vitesse de dégradation est importante au départ puis elle décroît avec la diminution de la concentration. $n=1 \longrightarrow -dC/dt = K.C$

- ✓ En intégrant cette équation, on obtient l'équation de l'asymptote :

$$C = C_0 \cdot e^{-Kt}$$

- ✓ En exprimant cette équation en logarithme, on obtient une droite de pente K .

$$\text{Log}C = -(kt/2.303) + \text{log}C_0$$

➤ **ORDRE 2 : (3eme tracé)**

- ✓ Dans ce type de réaction, deux molécules sont impliquées dans le processus de dégradation (exemple : interaction entre PA et excipient).

$$-dC / dt = K.C^2$$

- ✓ La vitesse de dégradation est fonction du carré de la concentration en PA.

En intégrant l'équation précédente, on obtient l'équation de l'hyperbole $C = f(t)$.

$$\boxed{1/C = -K t + 1/ C_0}$$

On s'assure qu'une réaction est d'ordre 2, en vérifiant si le graphe $1/C$ en fonction du temps est bien une droite : $1/C = f(t)$, de pente K

3. Détermination de la constance de vitesse de dégradation à 25°C (K₂₅)

-Exposer le médicament à des températures élevées (40°, 50°, 60°, 70°...)

-Déterminer à chaque température la constante de vitesse de dégradation

-En se basant sur la loi d'ARRHENIUS on peut tracer la courbe:

$$\boxed{\text{Log } K = f(1/T)}$$

$$\boxed{K = A e^{-E_a / RT} \Rightarrow \log K = \log A -$$

A: constante

E_a: énergie d'activation

T: température absolue en kelvin

R : constante des gaz parfait

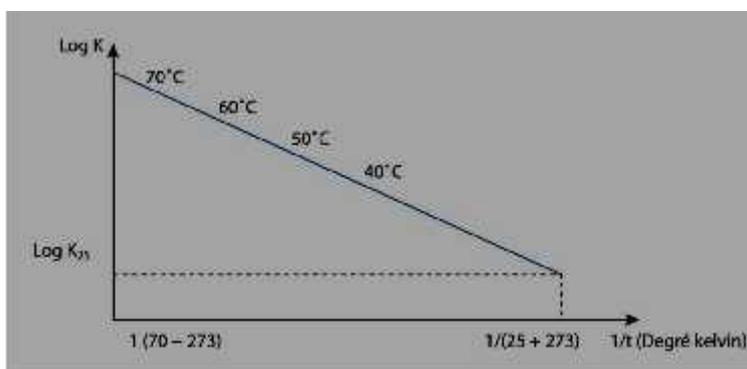


Figure n°40 : courbe d'évolution de log K en fonction de 1/t

4. ESTIMATION DE LA DURÉE DE VALIDITÉ

-A partir de la constante de vitesse de dégradation estimée K_{25} , et selon l'ordre de réaction de dégradation, la durée de conservation D du médicament est calculée comme suit :

- ✓ Si la réaction est d'ordre 0 : $D = X C_0 / 100 \cdot K_{25}$
- ✓ Si la réaction est d'ordre 1 : $D = (2,303 / K_{25}) \cdot \text{Log} (100 / 100 - X)$
- ✓ Si la réaction est d'ordre 2 : $D = [X / (100 - X)] \cdot 1 / (C_0 \cdot K_{25})$ X : étant la chute du titre en principe actif.
- ❖ Cette date de validité provisoire doit être confirmée par des études en temps réel. [37]