

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Saad Dahleb Blida 01  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



## Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences de la Nature et de la Vie

**Option : Biochimie**

**Sous l'intitulé**

***Contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique et  
toxicologique d'un antibiotique PRIMAZOL®  
(Sulfaméthoxazole 400mg et Triméthoprime 80mg)***

Soutenu le 14 Septembre 2020

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> AIT ABED Sara, M<sup>elle</sup> GUENINECHE Fatma-Zohra et M<sup>elle</sup> KAHLOUL Amel

**Devant le jury composé de :**

|                               |          |        |               |
|-------------------------------|----------|--------|---------------|
| M <sup>me</sup> CHALAL N H.   | MCB      | USDB1  | Présidente    |
| M <sup>me</sup> KHALDOUN H.   | MCA      | USDB1  | Examinatrice  |
| M <sup>me</sup> BENCHABANE S. | MCA      | USDB1  | Promotrice    |
| M <sup>me</sup> KHEMIES H.    | Analyste | SAIDAL | Co-promotrice |

Année universitaire 2019/2020

## **Remerciements**

*Louange à Allah, Dieu le tout-puissant qui nous a guidés dans la bonne voie de la science et de la connaissance et qui nous a donné la patience et la force pour poursuivre et dépasser tous les obstacles.*

*Nous adressons nos profondes gratitudee et nos sincères remerciements à notre promotrice Mme **BENCHABANE S.** d'avoir accepté de nous encadrer et nous orienter tout au long de notre travail, on la remercie pour le soutien qu'elle nous a apporté, sa grande disponibilité, sa confiance, sa patience, sa gentillesse et ses remarques.*

*Nos vives reconnaissances vont également à Mme **KHEMIES H.** d'avoir accepté d'être Co-Promotrice.*

*Nos vifs remerciements vont également à Mme **CHALAL N H.** qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance de ce mémoire; ainsi qu'à Mme **KHALDOUN H.** pour avoir pris le temps d'examiner ce mémoire.*

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

*Nous tenons aussi à exprimer nos remerciements à l'ensemble des enseignants et particulièrement le chef d'option de biochimie et le chef de département de biologie et physiologie cellulaire pour leurs efforts durant notre cursus universitaire.*



## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à :*

- *Ma chère mère, en témoignage de son amour, sa confiance et son soutien toute au long de ma vie. J'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect.*
- *Ma grand-mère maternelle qui n'a cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité.*
  - *Mon père, mes sœurs et frères.*
  - *Ma tante, son mari et ses filles Liliane et Mérina.*
    - *Mes oncles Amar et Razeq.*
    - *Toute la famille AIT ABED et BESSADI.*
- *Mes chère-s ami-e-s qui ont marqué-e-s ces dernières années de souvenirs inoubliables.*
  - *Ma promotrice Mme BENCHABANE.*
  - *Mon trinôme Amel et Fatma-Zohra.*
- *La mémoire de Mme KEBBAS, la professeure qui a réussi à m'inspirer, à me donner confiance en moi et en l'avenir mais aussi qui a réussi à me donner l'envie d'apprendre.*
- *Enfin, je ne saurai terminer sans exprimer ma gratitude à tous les enseignant-e-s du département de BPC pour leur dévouement et leur assistance tout au long de mes études universitaires.*

*SARA.*

# *Dédicaces*



*Je dédie ce modeste travail*

## *A mes très chers parents*

*C'est avec joie et fierté que je dédie ce travail, à deux personnes :  
Pour leur amour, leur affection, et la meilleure éducation qu'ils m'ont  
donné ; pour leur encouragement et leur aide qui m'a permis d'aboutir  
à ce que je suis maintenant.*

*Ces personnes sont : mon très cher papa et ma très chère maman, à qui  
je souhaite une très bonne santé et une longue vie.*

*A ma chère sœur Amel.*

*A mes chers frères Mohamed et Abderrahmane.*

*A mes meilleures amies Raounak, Amina, Sarah, Nadjat et Hayat.*

*A mes collègues dans cette recherche Amel et Sara.*

*A toute la famille GUENINECHE.*

*Fatma-Zohra*

# *Dédicace*

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

*C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que je dédie le fruit de ce modeste travail comme un geste de gratitude :*

*À mes très chers parents*

*À Ma mère, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore...*

*À Mon père, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur*

*A mon cher frère et mes chères sœurs*

*Qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité*

*Maamer, Fahima et Assia*

*A toute ma famille et mes proches sans exception.*

*A mes collègues dans cette recherche Fatma-Zohra et Sara, pour les moments de stress qu'on a su surmonter et les moments de joie qu'on a partagé.*

*Les personnes qui m'ont aidé et encouragé, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'étude supérieure spécialement Sarah, Selma, Hadjer, Siham, Nadjet, Hayat et mes aimables amis et collègues.*

*Toute ma promotion 2020.*

*Tous mes enseignants sans exception.*

*Amel*

## Liste des figures

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figure (01) :</b> Différents modes d'action des antibiotiques.....   | 08        |
| <b>Figure (02) :</b> Mode d'action des sulfamides et du triméthoprimé sur la synthèse de l'acide folique.....   | 13        |
| <b>Figure (03) :</b> Présentation de la boîte du médicament PRIMAZOL®.....  | 13        |
| <b>Figure (04) :</b> Schéma récapitulatif des méthodes de contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique de PRIMAZOL® effectuées..... | 40        |
| <b>Figure (05) :</b> Spectre d'absorption du sulfaméthoxazole «essai».....  | 42        |
| <b>Figure (06) :</b> Comparaison de spectre d'absorption du sulfaméthoxazole par IR avec sa substance de référence.....                                       | 43        |
| <b>Figure (07) :</b> Spectre d'absorption du triméthoprimé «essai» .....  | 44        |
| <b>Figure (08) :</b> Spectre d'absorption du triméthoprimé SCR par IR .....   | 45        |
| <b>Figure (09) :</b> Comparaison du spectre d'absorption du triméthoprimé par IR avec sa substance de référence .....   | 45        |
| <b>Figure (10) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de «PRIMAZOL® 400mg /80mg » dans la solution témoin .....  | Annexe 03 |
| <b>Figure (11) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » .....  | Annexe 03 |
| <b>Figure (12) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de «PRIMAZOL® 400mg /80mg » dans la solution témoin .....  | Annexe 03 |
| <b>Figure (13) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 1.....   | Annexe 03 |
| <b>Figure (14) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 2.....   | Annexe 03 |
| <b>Figure (15) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 3.....   | Annexe 03 |
| <b>Figure (16) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 4.....   | Annexe 03 |
| <b>Figure (17) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 5.....   | Annexe 03 |
| <b>Figure (18) :</b> Chromatogramme représentant le dosage de produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 6.....   | Annexe 03 |

## Liste des tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau I</b> : Avantages et inconvénients des comprimés .....                                     | 05 |
| <b>Tableau II</b> : Classification des antibiotiques .....  | 09 |
| <b>Tableau III</b> : Caractéristiques de PRIMAZOL® 400mg/80mg .....                                   | 14 |
| <b>Tableau IV</b> : Procédé de fabrication de PRIMAZOL® 400mg/80mg au niveau d'unité BIOTIC.....      | 20 |
| <b>Tableau V</b> : Résultats du contrôle physico-chimique du principe actif sulfaméthoxazole...       | 41 |
| <b>Tableau VI</b> : Résultats du contrôle physico-chimique du principe actif triméthoprimé.....       | 43 |
| <b>Tableau VII</b> : Résultats du contrôle physico-chimique du produit fini (PRIMAZOL®).....          | 47 |
| <b>Tableau VIII</b> : Résultats attendus du contrôle microbiologique du produit fini (PRIMAZOL®)..... | 49 |
| <b>Tableau IX</b> : Résultats attendus du contrôle toxicologique du produit fini (PRIMAZOL®).....     | 50 |

## **Abréviations**

**ADN** : acide désoxyribonucléique

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

**ARN** : acide ribonucléique

**ATB** : antibiotique

**BPF** : Bonne pratique de fabrication

**CASO** : milieu liquide aux peptones de caséine et de soja

**Cp** : comprimé

**CRD** : Centre de recherche et de développement.

**Cs** : cendres sulfuriques.

**CT** : correspondance.

**Dg** : dosage.

**DHF** : acide dihydrofolique

**F** : friabilité.

**G6PD** : glucose -6-phosphate déshydrogénase

**GDC** : Gué de Constantine

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance.

**ISO** : International Standard Organisation

**LNCPP** : Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques.

**MM** : masse moyenne.

**OMS** : organisation mondiale de la santé

**PABA** : Acide para-amino-benzoïque

**Pd** : perte à la dessiccation

**PE** : pharmacopée européenne

**Pm** : poids moyen.

**Pt** : poids total des comprimés.

**®** : Marque déposée

**R** : pure.

**SCR** : Substances Chimiques de Référence.

**THF** : acide tétrahydrofolique

**UFC** : Unité Formant Colonie.

**V** : volume.

**VIH** : virus de l'immunodéficience humaine

**VRBG** : gélose à la bile-violet cristallisé-rouge neutre avec glucose.

## Glossaire

**Cystite aiguë** : est une infection bactérienne de la vessie (du tractus urinaire inférieur), qui peut se produire seul ou en combinaison avec une pyélonéphrite (infection du rein – des voies urinaires supérieures) (Codastefano Rangel, 2016).

**Diluants** : Les diluants sont utilisés pour augmenter le volume d'une dose dans le cas où la quantité de médicament à absorber est très faible (Duroudier, 2017).

**Fièvre typhoïde** : est une infection bactérienne systémique à point de départ lymphatique mésentérique. Elle est causée par une entérobactérie strictement humaine : *Salmonella enterica*, sérotype *typhi* et *paratyphi A, B et C* (Stitou, 2019).

**Infections urogénitales** : Les infections urogénitales chez l'homme sont principalement d'origine sexuelle, dans le cadre d'une infection sexuellement transmise (IST), ou d'origine urinaire (infection par voie rétrograde). Elles peuvent atteindre, de manière isolée ou associée, l'urètre (urétrites), l'épididyme et le testicule (orchi-épididymites) ou la prostate (prostatites). Les germes le plus souvent retrouvés sont : *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* pour les IST ; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ou entérocoques pour les infections d'origine urinaire (Audenet et Bruyère, 2016).

**Liants (ou adhésifs)** : Sont utiles pour maintenir la cohésion des granulés, et d'une façon générale (granulés, comprimés), pour consolider les liaisons interparticulaires (Duroudier, 2017).

**Lubrifiants** : Sont utiles pour diminuer le frottement contre la matrice de formation du comprimé (Duroudier, 2017).

**Pharmacocinétiques** : étudie le devenir du médicament dans l'organisme (Stora, 2013).

**Pharmacodynamique** : représente l'étude de l'effet du médicament sur le corps (Lombared, 2019).

**Pharmacopée** : la pharmacopée est un ouvrage réglementaire destiné à être utilisé par les professionnels de santé. Elle définit notamment les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments (à usage humain ou vétérinaire) et les méthodes d'analyse à utiliser pour en assurer leur contrôle (PE, 2017).

**Pneumocystose :** la pneumocystose humaine est une mycose profonde due à un champignon, très ubiquitaire à comportement opportuniste, *Pneumocystis carinii* (ou *pneumocystis jiroveci*), se développant principalement dans les poumons de patients profondément immunodéprimés **(ANOFEL, 2014)**.

**Prostatites :** La prostatite aiguë est une inflammation aiguë de la glande prostatique d'origine infectieuse, bactérienne le plus souvent, pouvant se compliquer rapidement d'urosepsis et de bactériémies. Toute infection urinaire fébrile chez l'homme doit faire évoquer une prostatite aiguë a priori, la glande prostatique jouant le rôle de « barrière » anatomique contre une potentielle contamination ascendante des voies urinaires **(Broggi et Bruyère, 2012)**.

## Résumé

Notre travail, effectué au laboratoire de contrôle de qualité de l'unité SAIDAL Biotic ( Gué de Constantine), a porté sur le contrôle de la qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique d'un antibiotique sous forme comprimés, il s'agit de PRIMAZOL® (Sulfaméthoxazole 400mg et Triméthoprim 80mg) qui est un anti-infectieux. Ce contrôle a pour rôle de vérifier la bonne qualité du produit, et il comprend un :

Contrôle de la qualité physico-chimique des matières premières et du produit fini, mettant en évidence les différents paramètres indispensables comme les tests d'identifications par des moyens chimiques et chromatographiques, ainsi les épreuves physiques tels que l'étude de la friabilité et le délitement des comprimés.

Contrôle microbiologique du produit fini, qui a porté sur la détection et le dénombrement des proliférations microbiennes et les germes pathogènes qui pouvant altérer la qualité du médicament.

Contrôle toxicologique du produit fini, qui a porté sur la recherche ou la révélation d'une éventuelle toxicité chez les souris albinos pour confirmer l'innocuité du produit avant sa commercialisation.

L'ensemble des résultats de cette étude sont parfaitement conformes aux normes internationales décrites par la Pharmacopée Européenne 2017, et se traduisent par la bonne qualité du produit du point de vue :

- Physico-chimique, par la bonne qualité des matières premières et du produit fini,
- Microbiologique, par l'absence des micro-organismes pathogènes,
- Toxicologique, par l'absence d'anomalies et mortalités.

**Mots clés :** PRIMAZOL® 400mg/80mg, Sulfaméthoxazole, Triméthoprim, anti-infectieux, contrôle physico-chimique, microbiologique, toxicologique.

## **Abstract**

Our work, carried out in the quality control laboratory of the SAIDAL Biotic unit (Gué de Constantine), focused on the physicochemical, microbiological and toxicological quality control of an antibiotic in tablets form; PRIMAZOL® (Sulfamethoxazole 400mg and Trimethoprim 80mg) which is an anti-infective. The role of this control is to verify the product's quality, and it includes a:

Control of the physicochemical quality of the raw materials and the finished product, highlighting the various essential parameters such as identification tests by chemical and chromatographic means, as well as physical tests such as the study of friability and disintegration of tablets.

Microbiological control of the finished product, which focused on the detection and enumeration of microbial proliferation and pathogenic germs capable of altering the drug's quality.

Toxicological control of the finished product which focused on researching or revealing possible toxicity in albino mice to confirm the product's safety before marketing.

The overall results of this study are perfectly in line with the international standards described by the European Pharmacopoeia 2017, and are reflected in the good quality of the product from different points of view:

- Physicochemical, by the good quality of the raw materials and of the finished product.
- Microbiological, by the absence of pathogenic microorganisms.
- Toxicological, by the absence of abnormalities and mortalities.

Keywords: PRIMAZOL®400mg / 80mg, Sulfamethoxazole, Trimethoprim, anti-infective, physicochemical control, microbiological, toxicological.

## ملخص

ركز عملنا ، الذي تم تنفيذه في مخبر مراقبة الجودة في وحدة صيدال بيوتيك (جسر قسنطينة) على مراقبة الجودة الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية والسمية لمضاد حيوي في شكل أقراص، بريمازول ( سولفاميثوكسازول 400مغ و تريميثوبريم 80 مغ)، وهو مضاد للجراثيم و الطفيليات. هذه المراقبة تهدف للتحقق من النوعية الجيدة للمنتج، وتشمل:

مراقبة الجودة الفيزيوكيميائية للمواد الأولية والمنتج النهائي من خلال تسليط الضوء على مختلف المعايير الأساسية مثل اختبارات تحديد الهوية بوسائل كيميائية و كروماتوغرافية، وكذلك الاختبارات الفيزيائية مثل دراسة تفتت وتفكك الأقراص.

مراقبة الجودة الميكروبيولوجية للمنتج النهائي التي تمثلت في كشف وتعداد نمو الميكروبات والجراثيم الخطيرة التي قد تؤثر على جودة الدواء.

مراقبة سمية المنتج النهائي التي ركزت على البحث أو الكشف عن سمية محتملة في الفئران البيضاء و هذا لتأكيد سلامة المنتج قبل التسويق.

تتوافق النتائج الإجمالية لهذه الدراسة مع المعايير الدولية الموضحة في دستور الأدوية الأوروبي لعام 2017، وبعكس ذلك في الجودة الجيدة للمنتج من جهات نظر مختلفة:

- الفيزيوكيميائية، من خلال الجودة الجيدة للمواد الخام و المنتج النهائي،
- الميكروبيولوجية، من خلال عدم وجود الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض،
- السمية، من خلال غياب حالات الاختلال والوفيات.

**الكلمات المفتاحية:** بريمازول 400مغ/80مغ، سولفاميثوكسازول، تريميثوبريم، مضاد للجراثيم و الطفيليات ، مراقبة الجودة الفيزيوكيميائية، الميكروبيولوجية، السمية.

## Table des matières

|  |           |
|--|-----------|
| Remerciements  |           |
| Dédicaces  |           |
| Liste des figures  |           |
| Liste des tableaux   |           |
| Abréviations   |           |
| Glossaire  |           |
| Résumé   |           |
| <b>Introduction</b> .....  | <b>1</b>  |
| <b>Chapitre I : Partie bibliographique :</b>                                   |           |
| <b>I.1. Généralités sur les médicaments</b> .....                              | <b>3</b>  |
| <b>I.1.1. Définition</b> .....   | <b>3</b>  |
| <b>I.1.2. Origine</b> .....  | <b>3</b>  |
| <b>I.1.3. Composition</b> .....  | <b>4</b>  |
| <b>I.1.4. Médicament Princeps et générique</b> .....                           | <b>4</b>  |
| <b>I.1.5. Les comprimés</b> .....  | <b>5</b>  |
| <b>I.1.6. Rappel sur les infections bactériennes</b> .....                     | <b>5</b>  |
| <b>I.1.7. Antibiotiques</b> .....  | <b>6</b>  |
| <b>I.1.8. Effets bactériostatiques et bactéricides des antibiotiques</b> ..... | <b>6</b>  |
| <b>I.1.9. Mode d'action des antibiotiques</b> .....                            | <b>6</b>  |
| <b>I.1.10. Spectre d'action des antibiotiques</b> .....                        | <b>8</b>  |
| <b>I.1.11. Classification des antibiotiques</b> ... ..                         | <b>9</b>  |
| <b>I.1.12. Sensibilité et résistance aux antibiotiques</b> .....               | <b>11</b> |
| <b>I.2. Sulfamides</b> .....   | <b>12</b> |
| <b>I.2.1. Définition</b> .....   | <b>12</b> |
| <b>I.2.2. Mode d'action des sulfamides</b> .....                               | <b>12</b> |
| <b>I.2.3. Association sulfamides et triméthoprim</b> .....                     | <b>13</b> |
| <b>I.3. PRIMAZOL® 400mg/80mg</b> .....   | <b>13</b> |
| <b>I.3.1. Définition</b> .....   | <b>13</b> |
| <b>I.3.2. Composition</b> .....  | <b>14</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| I.3.3. Indications.....   | 14        |
| I.3.4. Contre-indications.....                                  | 15        |
| I.3.5. Posologie et mode d'administration.....                  | 15        |
| I.3.6. Pharmacodynamique.....                                   | 16        |
| I.3.7. Pharmacocinétique.....                                   | 16        |
| <b>I.4. Concepts liés à la qualité pharmaceutique.....</b>      | <b>17</b> |
| I.4.1. Définition de la qualité.....                            | 17        |
| I.4.2. Assurance de la qualité.....                             | 17        |
| I.4.3. Bonnes pratiques de fabrication.....                     | 18        |
| I.4.4. Contrôle de la qualité.....                              | 18        |
| I.4.4.1. Définition.....  | 18        |
| I.4.4.2. But du contrôle de la qualité.....                     | 18        |
| I.4.4.3. Contrôle qualité des médicaments.....                  | 18        |
| I.4.4.4. Différents types de contrôle de qualité.....           | 19        |
| I.4.4.5. Autorisation de mise sur le marché.....                | 19        |
| I.4.5. Le procédé de fabrication de PRIMAZOL® 400 mg/80 mg..... | 20        |

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

### **II.1. Matériel**

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| II.1.1. Matériel biologique.....     | 21 |
| II.1.2. Matériel non biologique..... | 21 |

### **II.2. Méthodes**

|   |    |
|---|----|
| II.2.1. Echantillonnage.....                          | 21 |
| II.2.2. Contrôle physicochimique.....                 | 21 |
| II.2.2.1. Matières premières.....                     | 21 |
| II.2.2.2. Contrôle de produit fini.....               | 28 |
| II.2.3. Contrôle microbiologique du produit fini..... | 34 |
| II.2.4. Contrôle toxicologique du produit fini.....   | 39 |

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

|   |    |
|---|----|
| III.1. Contrôle physicochimique.....                          | 41 |
| III.1.1. Contrôle physicochimique des matières premières..... | 41 |
| III.1.2. Contrôle physicochimique du produit fini.....        | 47 |
| III.2. Contrôle microbiologique du produit fini.....          | 49 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>III.3. Contrôle toxicologique du produit fini.....</b> | <b>50</b> |
| <b>Conclusion .....</b>                                   | <b>52</b> |
| <b>Références bibliographiques</b>                        |           |
| <b>Annexes</b>  |           |

### Introduction

L'accès à des médicaments essentiels de bonne qualité est un élément clé pour assurer non seulement la santé individuelle mais aussi, à long terme, la santé publique et la prospérité nationale.

Les médicaments de mauvaise qualité peuvent entraîner une augmentation de la morbidité, de la mortalité et une perte de confiance dans le système de santé. Un dosage insuffisant du Principe Actif (PA) peut conduire à un échec thérapeutique, et dans le cas des antibiotiques, à une éventuelle émergence de résistances voire d'épidémies car les patients mal traités sont infectieux plus longtemps.

Au cours de la dernière décennie, le nombre de rapports sur la mauvaise qualité et en particulier les médicaments contrefaits, ainsi que l'attention des médias sur ces problèmes, ont augmenté (**Lehmann et al., 2018**). D'après les nouveaux travaux de recherche menés par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 1 médicament sur 10 en circulation dans les pays à revenu faible ou intermédiaire est, selon les estimations, soit de qualité inférieure, soit falsifié (**Organisation Mondiale de la Santé : OMS, 2017**).

Il est donc nécessaire d'assurer la qualité du produit pendant le processus de fabrication et directement sur le produit médicamenteux final (**Boiret et Chauchard, 2016**). Les normes de qualité des médicaments sont fixées par des pharmacopées internationalement reconnues telles que la Pharmacopée des États-Unis (USP) et la Pharmacopée Européenne (PE), ainsi que par les lois et réglementations nationales (**Lehmann et al., 2018**).

En Algérie, c'est le laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques (LNCPP), un établissement public à caractère administratif placé sous la tutelle du ministère de la santé, qui est chargé de contrôler systématiquement tous les lots de produits importés et fabriqués localement dans l'Algérie selon la réglementation en vigueur.

C'est dans ce contexte que la problématique de notre étude est établie, et trouve son origine dans la question suivante :

- ✓ Est-ce que le PRIMAZOL® 400mg/80mg est conforme aux normes de qualité prescrites par le LNCPP ?

Ce travail a par conséquent comme objectif de réaliser un contrôle de la qualité d'un médicament antibiotique (PRIMAZOL® 400/80 mg) au niveau de l'unité de Gué de Constantine de la filiale BIOTIC de groupe SAIDAL. Ce contrôle consiste en des analyses de

la qualité physico-chimique des matières premières composant ce médicament, ainsi que la qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique de produit fini « PRIMAZOL® 400mg/80mg ».

Notre étude est répartie en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur les médicaments et plus précisément les antibiotiques, leurs spectre et mécanismes d'action, leur classification, et la sensibilité et résistance aux antibiotiques. Ensuite, seront abordées les différentes connaissances bibliographiques sur les sulfamides, PRIMAZOL® 400mg/80mg et ainsi que les concepts liés à la qualité pharmaceutique.
- ✓ Dans le deuxième chapitre, seront développés le matériel et l'ensemble des techniques et méthodes utilisées pour le contrôle de la qualité de PRIMAZOL® 400mg/80mg.
- ✓ Le troisième chapitre sera consacré aux résultats et discussion nécessaires pour comparer nos résultats par rapport aux normes exigées par la PE 2017. Une conclusion est donnée à la fin du présent travail en tirant les principaux résultats obtenus.

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

### **I.1.1. Définition**

Par définition, le médicament est «toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » (**Vandamme *et al.*, 2010**).

### **I.1.2. Origine**

#### **I.1.2.1. Médicaments d'origine végétale**

L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent.

Exemple : morphine extraite de la capsule du pavot à opium (**Talbert *et al.*, 2009**).

#### **I.1.2.2. Médicaments d'origine animale**

Leur emploi est aussi ancien que celui des plantes. L'utilisation d'organes ou de glandes fraîches vers la fin du XIX<sup>e</sup> siècle a ouvert la voie à l'opothérapie.

Exemple : trypsine, enzyme protéolytique extraite du pancréas (**Talbert *et al.*, 2009**).

#### **I.1.2.3. Médicaments d'origine microbiologique**

Les vaccins obtenus à partir de bactéries ou de virus. Certains micro-organismes cultivés de façon appropriée sécrètent diverses substances utilisées en thérapeutique. Il s'agit des antibiotiques (**Talbert *et al.*, 2009**).

#### **I.1.2.4. Médicaments d'origine minérale**

De nombreux ont été, comme les plantes, longtemps utilisés avant le développement de la chimie organique. Ils sont encore employés en qualité de principes actifs ou d'excipients des médicaments.

Exemples : argiles, sulfate de magnésium, chlorure de sodium (**Talbert *et al.*, 2009**).

#### **I.1.2.5. Médicaments d'origine synthétique**

La chimie organique représente de loin la principale source de production des médicaments modernes. La synthèse de molécules complexes nécessite souvent d'importantes études de recherche et de mise au point par étapes successives pour aboutir à la structure désirée (**Talbert *et al.*, 2009**).

### **I.1.2.6. Médicaments d'origine biotechnologique**

Il s'agit de méthodes de synthèse très élaborées faisant intervenir pour l'essentiel des techniques de génie génétique.

Exemple : la synthèse de l'interféron, d'insuline humaine...etc (**Talbert *et al.*, 2009**).

### **I.1.3. Composition**

Un médicament tel qu'il est présenté aux patients est constitué par un ou plusieurs principe(s) actif(s), de substances auxiliaires ou excipients et des articles de conditionnement (**Le Hir *et al.*, 2009**).

#### **I.1.3.1. Principe actif**

Encore appelé substance active, représente 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 pharmacologiques. Un médicament peut contenir plusieurs principes actifs (**Aiache *et al.*, 2008**).

#### **I.1.3.2. Excipient**

L'excipient est un mélange de substances dites auxiliaires, inactives par elles-mêmes sur la maladie, qui facilitent la préparation et l'emploi du médicament. Celui-ci comporte en plus le conditionnement qui en facilite la délivrance, l'utilisation et en assure la conservation (**Orphee, 2008**).

### **I.1.4. Médicaments Princeps et générique**

#### **I.1.4.1. Princeps**

Un médicament Princeps (d'origine ou de référence) 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 cependant une durée de 20 ans en général. Ce médicament doit nécessairement faire l'objet d'essais cliniques avant l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) (**Ragued et Guerch, 2019**).

#### **I.1.4.2. Générique**

Le médicament générique est défini comme étant « tout médicament qui a la même composition qualitative et quantitative en principe(s) actif(s), la même forme pharmaceutique, et qui est interchangeable avec la spécialité de référence du fait de sa bioéquivalence

démontrée par des études appropriées de biodisponibilité. Une spécialité ne peut être qualifiée de spécialité de référence, que si son enregistrement a été effectué au vu de l'ensemble des données nécessaires et suffisantes à elles seules pour son évaluation » (**Ragued et Guerch, 2019**).

### I.1.5. Les comprimés

D'après la **PE 2014**, les comprimés sont des préparations solides contenant une unité de prise d'une ou plusieurs substances actives. Ils sont obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules ou par un autre procédé de fabrication approprié tel que l'extrusion, le moulage ou la cryodessiccation (lyophilisation).

#### I.1.5.1. Avantages et inconvénients des comprimés

Les Avantages et inconvénients des comprimés se présentent dans le tableau I.

**Tableau I** : Avantages et inconvénients des comprimés (**Allo et al., 2005**)

| Avantages   | Inconvénients   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Emploi facile : solidité suffisante pour le transport et le conditionnement, faciles à avaler.</li> <li>• Dosage précis.</li> <li>• Forme sèche : bonne conservation.</li> <li>• Possibilité de masquer complètement la saveur par l'enrobage.</li> <li>• Possibilité de contrôler la libération du principe actif.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Si le délitement n'est pas rapidement assuré, il y a un risque pour la muqueuse digestive.</li> <li>• Pas de principe actif liquide.</li> <li>• Nécessite d'utiliser de nombreux excipients qui peuvent présenter des effets secondaires.</li> </ul> |

### I.1.6. Rappel sur les infections bactériennes

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être: - Locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré. - Générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme. - Focale: c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine (**Marc et al., 2001**).

### **I.1.7. Antibiotiques**

#### **I.1.7.1. Définition d'un antibiotique**

Toute substance naturelle ou synthétique, capable d'inhiber *in vivo* le développement des bactéries selon qu'ils sont actifs contre beaucoup ou peu de germes, on les divise en antibiotiques à large spectre ou à spectre étroit. On peut également les classer en antibiotiques bactériostatiques ou bactéricides selon qu'ils enrayent la multiplication des germes ou qu'ils en assurent la destruction (**Jacques, 2007**).

#### **I.1.8. Effets bactériostatiques et bactéricides des antibiotiques**

Les antibiotiques sont soit bactériostatiques, soit bactéricides, en fonction de leur concentration dans le milieu intérieur, ou expérimentalement, dans le milieu de culture (**Cohen C. et Jacquot Y., 2008**).

- Bactériostase : La bactériostase est le phénomène de ralentissement ou d'inhibition de la manipulation des germes dans un milieu donné. Au bout d'un temps donné, en présence d'antibiotique, le nombre de germes bactériens vivants est inférieur au nombre de germes qui seraient vivants dans un milieu et des conditions de culture identiques mais en absence d'antibiotiques. On l'a défini comme étant la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Cohen C. et Jacquot Y., 2008**).
- Action bactéricide : Certains antibiotiques manifestent une action bactéricide. Ils tuent les germes dans le milieu de culture. Au bout d'un certain temps, le nombre de germes viables a diminué par rapport à leur nombre avant incubation. On l'a défini comme étant la concentration minimale bactéricide (CMB) (**Cohen C. et Jacquot Y., 2008**).

Lorsqu'un antibiotique a une CMB proche de la CMI on dit qu'il est bactéricide. Lorsque la CMB est beaucoup plus élevée que la CMI on dit qu'il est bactériostatique (**Cohen C. et Jacquot Y., 2008**).

#### **I.1.9. Mode d'action des antibiotiques**

Les antibiotiques agissent sur les micro-organismes par plusieurs mécanismes (figure 01), dont certains sont connus: sur la paroi bactérienne, sur la membrane cytoplasmique, sur les acides nucléiques, sur le métabolisme intermédiaire (**Cohen et Jacquot, 2008**).

**I.1.9.1. Action sur la paroi bactérienne**

La synthèse des mucopeptides de la paroi bactérienne est perturbée par l'inhibition de certaines enzymes: peptido-glycane-synthétase, transpeptidase, etc. Les bêtalactamines, la cyclosérine, la bacitracine, la vancomycine agissent par ce mécanisme, de préférence sur les bactéries jeunes dont la paroi est en cours d'édification. Les Cocci Gram+ dont la paroi est riche en mucopeptides sont plus sensibles que les Cocci Gram- (**Cohen et Jacquot, 2008**).

**I.1.9.2. Action sur la membrane cytoplasmique**

Certains antibiotiques se fixent sur les phospholipides de la membrane cytoplasmique, entraînant une altération de la perméabilité de cette membrane. Ils opèrent comme les agents tensioactifs cationiques. Les constituants cellulaires s'échappent du cytoplasme bactérien, ce qui provoque la mort de la cellule. La polymyxine, la colistine, la bacitracine, la tyrothricine, qui sont des polypeptides cycliques à caractère basique, agissent ainsi (**Cohen et Jacquot, 2008**).

**I.1.9.3. Action sur la réplication de l'ADN**

Certains antibiotiques bloquent la synthèse de l'ADN en inhibant la topo-isomérase II (ADN gyrase) en empêchant la relaxation de l'hélice d'ADN super-enroulée dans le sens positif, nécessaire pour une transcription et une réplication normale (**Bertram, 2000**). L'actinomycine D, les rifamycines, l'acide nalidixique perturbent la réplication de l'acide désoxyribonucléique (**Cohen et Jacquot, 2008**).

**I.1.9.4. Action sur la traduction de l'ARN messenger**

L'ARN messenger ou l'ARN de transfert sont les cibles des antibiotiques et les mécanismes de traduction de l'ARN messenger sont troublés. La streptomycine et les aminosides se fixent sur la sous-unité ribosomale 30 S, les tétracyclines, le chloramphénicol, les macrolides interviennent de diverses manières sur la sous unité ribosomale 50S (**Cohen et Jacquot, 2008**).

**I.1.9.5. Action sur le métabolisme intermédiaire**

La cyclosérine, les bêtalactamines, les sulfamides, l'acide para-amino-salicylique, le triméthoprime et l'isoniazide inhibent un système enzymatique (dihydrofolate réductase, mycolate synthétase, etc) (**Cohen et Jacquot, 2008**).

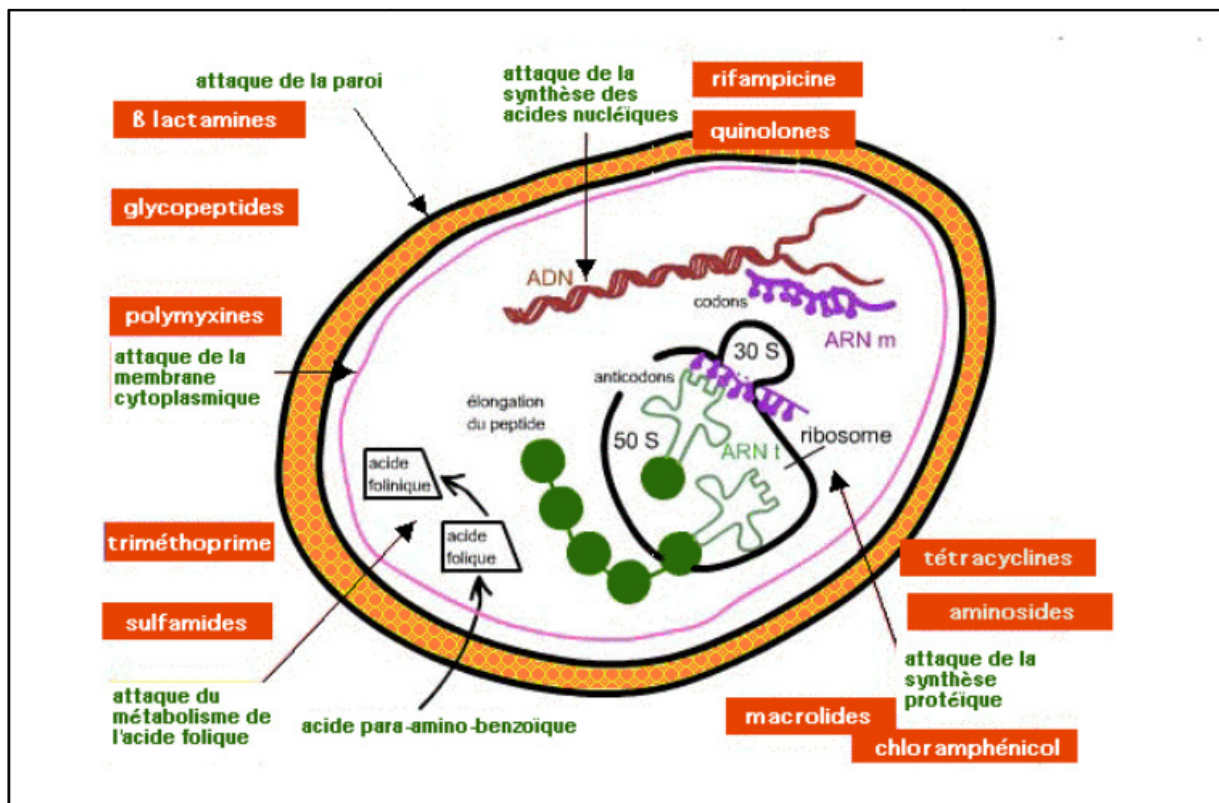


Figure 01 : Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007)

### I.1.10. Spectre d'action des antibiotiques

Chaque antibiotique est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qu'il peut toucher, à dose plus ou moins élevée. Il est différent pour chaque famille d'antibiotiques, bien qu'il puisse se recouper, en partie ou en totalité, avec celui d'autres antibiotiques, c'est à dire que les mêmes germes peuvent être sensibles à plusieurs antibiotiques à la fois. On a ainsi des antibiotiques à spectre large, moyen, ou étroit (Zeghilet N., 2009).

**I.1.11. Classification des antibiotiques**

On a proposé plusieurs bases de classification, selon la structure chimique, selon le mécanisme d'action, selon l'effet chimiothérapique (**Cohen et Jacquot, 2008**).

**Tableau II : Classification des antibiotiques (Gazengel et Orecchioni, 2013)**

| Famille        | Groupe   | Exemple  | Spectre d'activité                       | Mécanisme d'action   |
|----------------|--|--|--|--|
| Bêtalactamines | Les pénames<br>Les céphènes<br>Les pénèmes<br>Les monobactames | Pénicillines<br>Céphalosporines<br>Imipènem<br>Aztréonam               | Etroit<br>Etroit<br>Plus large<br>Etroit | Toutes sont bactéricides et agissent par inhibition de la synthèse du squelette nucopeptidique des parois bactériennes   |
| Aminosides     | Streptomycine<br>Gentamicine<br>Tobramycine<br>Nétilmicine     | Streptomycine<br>Gentaxine<br>Tobraxine<br>Nétilmicilèn                | Etroit                                   | Inhibent la synthèse protéique des bactéries par fixation au niveau de la sous-unité 30S du ribosome.<br>Bactéricide   |
| Macrolides     | Erythromycine<br>Spiramycine<br>Josamycine<br>Roxithromycine   | Erybeson<br>Spiroxe<br>Josacine<br>Roxide                              | Etroit                                   | Une action bactériostatique par inhibition de la synthèse protéique bactérienne par action sur la fraction 50S des ribosomes   |
| Quinolones     | Quinolones de 1 <sup>ère</sup> génération<br>Fluoroquinolones  | Acide pipémidique<br>Acide nalidixique<br>Ofloxacine<br>Ciprofloxacine | Etroit                                   | Les fluoroquinolones sont des antibiotiques bactéricides concentrations dépendants agissant en inhibant la synthèse de l'ADN bactérien par interaction avec l'ADN-gyrase |
| Phénicolés     | Thiamphénicol  | Thiamphénicol  | Large                                    | Il agit par arrêt de la synthèse protéique<br>Bactériostatique   |

**Tableau II : Classification des antibiotiques (suite) (Gazengel et Orecchioni, 2013)**

| Famille          | Groupe  | Exemple                                      | Spectre d'activité                             | Mécanisme d'action  |
|------------------|---|--|--|---|
| Tétracyclines    | Cyclines  | Tétracycline<br>Doxycycline<br>Minocycline   | Très large                                     | Bactériostatique<br>Agissent par inhibition de la synthèse protéique au niveau des sous-unités ribosomales 30S et 50S et par inhibition de système enzymatiques bactériens. |
| Nitro-imidazolés | Nitro-imidazol  | Métronidazole<br>Ordinazole                  | Etroit   | Bactéricide par inhibition de l'ADN bactérien   |
| Glycopeptide     | Voncomycine<br>Teicoplanine                             | Vancocine<br>Targocid                        | Etroit   | Agissent par blocage de la synthèse de la paroi bactérienne au niveau du mucopeptide, en inhibant la transglycolisation.<br>Bactéricide                                     |
| Sulfamides       | Sulfaméthoxazole<br>Sulfadiazine                        | Eusaprim<br>Bactrim<br>Cotrimazol            | Large  | Les sulfamides sont des inhibiteurs de l'acide folique par compétition avec l'acide para-amino-benzoïque.<br>Bactéricide  |
| Antituberculeux  | Isoniazide<br>Rifampicine<br>Ethambutol<br>Pyrazinamide | Rimifon<br>Rimactan<br>Myambutol<br>Pirilène | Très étroit<br>Assez large<br>Etroit<br>Etroit | Bactéricide<br>Bactéricide<br>Bactériostatique  |

## I.1.12. Sensibilité et résistance aux antibiotiques

### I.1.12.1. La Sensibilité

La sensibilité d'une bactérie à un antibiotique est la faculté pour cette bactérie de ne pas supporter une concentration minimale de l'antibiotique (**Florence *et al.*, 2008**).

### I.1.12.2. Résistance aux antibiotiques

On distingue deux types de résistances aux antibiotiques :

#### ➤ Résistance naturelle (ou intrinsèque)

Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps, les moyens de s'en protéger. Il s'agit de la résistance naturelle aux antibiotiques (**Lozniewskiet et Raband, 2010**).

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (**Smaoui, 2010**), elle fait partie du patrimoine génétique normale du germe (**Yala *et al.*, 2001**). La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (**Mendel *et al.*, 2009**).

#### ➤ Résistance acquise

On a une bactérie sensible à un antibiotique qui acquiert une résistance à ce même antibiotique. On retrouve deux grands types d'acquisition de résistance :

- **Résistance par mutation chromosomique**

Evènement rare : il s'agit d'une mutation chromosomique occasionnant le remplacement d'une base de l'ADN par une autre et conférant une résistance spontanée à une famille d'antibiotique. A noter que cet évènement est stable c'est-à-dire que cette résistance va passer aux générations suivantes de bactéries, donc à la descendance. On parle alors de transmission verticale.

- **Résistance par acquisition de gènes**

La bactérie acquiert un gène de résistance porté par des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons ou intégrons). C'est un phénomène fréquent qui concerne la majorité des bactéries résistantes à un antibiotique. De plus ce nouveau gène est transmis à la descendance qui acquiert la même résistance, cependant ce phénomène est moins stable que la mutation chromosomique, surtout en absence du facteur de sélection, la bactérie redevient même sensible. On parle pour ce mécanisme, de transmission horizontale (**Battraud, 2017**).

## **I.2. Sulfamides**

### **I.2.1. Définition**

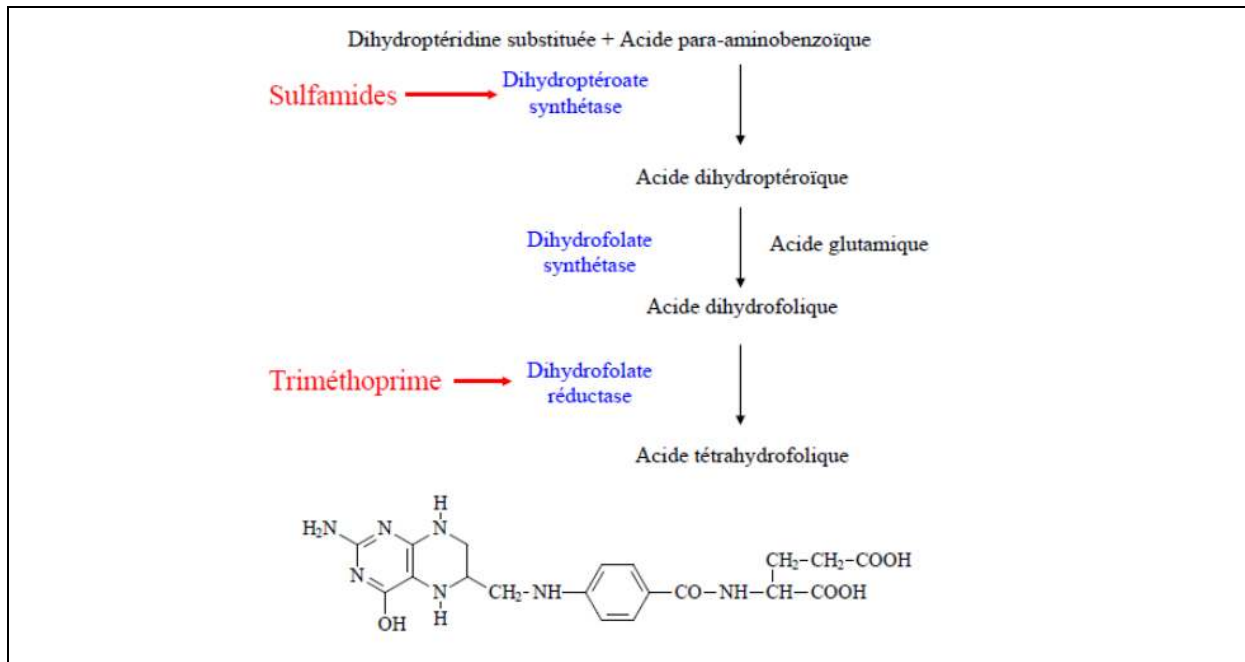
Le sulfamide, ou amine sulfurique, correspond à un élément chimique obtenu par réaction de l'ammoniac avec du chlorure de sulfuryle. En médecine, ce composé soufre de formule  $\text{SO}_2(\text{NH}_2)_2$  possède trois indications différentes. Ainsi, les sulfamides antidiabétiques agissent sur la sécrétion d'insuline par le pancréas. De leur côté, les sulfamides diurétiques augmentent l'élimination des urines par le rein. Enfin, les sulfamides antibactériens, eux, ont une action antibiotique, néanmoins amoindrie par l'apparition de résistances bactériennes importantes (**Delizy *et al.*, 2004**).

### **I.2.2. Mode d'action des sulfamides**

Les micro-organismes sensibles ont besoin de l'acide para-amino-benzoïque (PABA) extracellulaire pour former de l'acide dihydrofolique, étape essentiel de la production des bases puriques et pyrimidiques (**Florence *et al.*, 2008**).

Le sulfaméthoxazole est un sulfamide antibactérien dont la cible est une enzyme, la dihydroptéroate synthétase (figure 02). Il agit comme un analogue (structural) qui va entrer en compétition avec le PABA au départ de la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (forme réduite de l'acide folique, indispensable à l'activité biologique). La dihydroptéroate synthétase a plus d'affinité pour le sulfaméthoxazole que le PABA, il va donc préférentiellement choisir l'antibiotique.

Le triméthoprime quant à lui va se lier à une autre enzyme importante pour la synthèse des folates, c'est la dihydrofolate réductase. Il va ainsi bloquer son action de réduction de l'acide DHF en acide THF, car il a une très forte affinité pour cette enzyme (**Battraud, 2017**).



**Figure 02 :** Mode action des sulfamides et du triméthoprime sur la synthèse de l'acide folique  
(Batraud, 2017)

### I.2.3. Association sulfamide et triméthoprime

On peut associer deux antibiotiques afin de retarder l'apparition d'une résistance microbienne, afin d'assurer une couverture antibiotique en urgence devant une infection à des germes inconnus, afin de rechercher une synergie et de limiter les effets indésirables (Cohen et Jacquot, 2008).

## I.3. PRIMAZOL® 400mg/80mg

### I.3.1. Définition

Le PRIMAZOL® est un anti-infectieux, il se présente sous forme de comprimés blancs. Chaque boîte (figure 03) contient 20 comprimés sous plaquettes (Dictionnaire CRD, 2005).

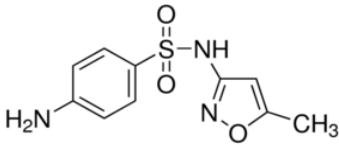
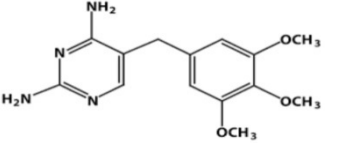
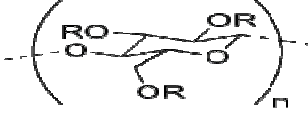
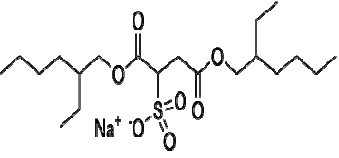
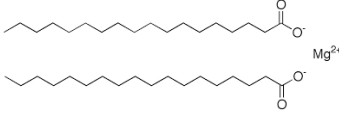



**Figure 03 :** Présentation de la boîte du médicament PRIMAZOL® (Photo originale, 2020)

### I.3.2. Composition

Le PRIMAZOL® est composé de deux principes actifs « sulfaméthoxazole 400mg et triméthoprime 80mg » et de quatre excipients « carboxyméthyl amidon sodique, dioctylsulfasuccinate de sodium, stéarate de magnésium, Povidone » comme l'indique le tableau III.

**Tableau III:** Caractéristique de PRIMAZOL® 400mg/80mg (**Dictionnaire CRD, 2005**)

| Composants                      | Rôle                | Formule chimique       | Formule développée   | Masse molaire           |
|---------------------------------|---------------------|------------------------|--|-------------------------|
| Sulfaméthoxazole                | Effet thérapeutique | $C_{10}H_{11}N_3O_3S$  |    | 253,3g/mol              |
| Triméthoprime                   | Effet thérapeutique | $C_{14}H_{18}N_4O_3$   |    | 290,3g/mol              |
| Carboxyméthyl amidon sodique    | Diluant             | $CH_2CO_2H$            |  | 22,95g/mol              |
| Dioctylsulfasuccinate de sodium | Liant               | $C_{20}H_{37}NaO_7S$   |  | 444,558±<br>0,026 g/mol |
| Stéarate de magnésium           | Lubrifiant          | $C_{36}H_{70}MgO_4$    |  | 591,25<br>g/mol         |
| Povidone                        | Liant               | $C_{6n}H_{9n+2}N_nO_n$ |  | 10000g/mol              |

### I.3.3. Indications

Elles procèdent de l'activité antibactérienne et antiparasitaire du produit, des caractéristiques pharmacocinétiques du sulfaméthoxazole et du triméthoprime, du risque d'effets indésirables (hématologiques et cutanés en particulier) et doivent tenir compte, dans un pays donné, de l'évolution de la sensibilité des germes vis-à-vis du produit et des autres antibiotiques disponibles. Selon les indications et les germes en cause, il convient d'utiliser en première intention l'antibiotique présentant le meilleur rapport bénéfice/risque. Elles sont limitées aux infections de l'adulte dues aux germes sensibles (**Dictionnaire CRD, 2005**).

→ Traitement curatif des:

- infections à *Pneumocystis carinii*;
- infections urogénitales de l'homme, notamment les prostatites.

→ Prévention des infections à *Pneumocystis carinii* chez l'immunodéprimé :

- chez les patients infectés par le VIH et à risque de pneumocystose;
- en cas de greffe de moelle osseuse ou de transplantation d'organe.

→ D'autre part, en tenant compte du rapport bénéfice/risque par rapport à d'autres produits, de l'épidémiologie et des résistances bactériennes observées dans ces pathologies :

- infections urinaires hautes et basses de la femme, notamment traitement monodose de la cystite aiguë non compliquée de la femme de moins de 65 ans;
- otites et sinusites, mais uniquement après documentation bactériologique;
- certaines infections broncho-pulmonaires;
- infections digestives, et de la fièvre typhoïde (**Dictionnaire CRD, 2005**).

#### I.3.4. Contre-indications

##### ❖ Absolues

- Antécédents d'hypersensibilité à l'un des composants (en particulier, hypersensibilité aux sulfamides);
- Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) : risque de déclenchement d'hémolyse;
- Atteinte sévère du parenchyme hépatique;
- Méthotrexate : interactions médicamenteuses;
- Pendant l'allaitement si le nouveau-né a moins d'un mois.

##### ❖ Relatives

- Phénytoïne, hyperkaliémiants, interactions médicamenteuses;
- Allaitement (**Dictionnaire CRD, 2005**).

#### I.3.5. Posologie et mode d'administration

La posologie habituelle est de 2 comprimés toutes les 12 heures. Elle peut atteindre 6 comprimés par jour en 2 ou 3 prises en cas d'infections sévères. L'administration se fera de préférence au cours des repas (**Dictionnaire CRD, 2005**).

### I.3.6. Pharmacodynamie

Le sulfaméthoxazole et le triméthoprim agissent en synergie.

- **Spectre d'activité antibactérienne**

Les concentrations critiques séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et, ces dernières des résistantes : triméthoprim - sulfaméthoxazole : S  $\leq$  2 mg/l et R  $>$  8 mg/l. L'association sulfamides-triméthoprim présente un effet fortement synergique vis-à-vis de la plupart des bactéries, y compris les souches résistantes à l'un des deux produits. Ceci explique l'activité de l'association sur les *nocardia* et les *stenotrophomonas* mais aussi sur *Escherichia coli* ayant une résistance acquise aux sulfamides (résistance même de haut niveau).

Cette synergie est maximale dans le rapport de leur CMI, c'est-à-dire 1/20 triméthoprim sulfamides pour les entérobactéries et staphylocoques. En revanche, vis-à-vis des bactéries naturellement résistantes au triméthoprim (*nocardia*, *stenotrophomonas*, *neisseria*), le rapport optimal doit être de 1/1 ou 2/1 triméthoprim-sulfamides.

**Espèces sensibles :**

- Aérobie à **Gram +** : *corynébactéries*, *entérocoques*, *listeria*, *Staphylococcus aureus*, *staphylococcus* à coagulase négative, *streptococcus*, *Streptococcus pneumoniae*.
- Aérobie à **Gram -** : *Citrobacter freundii*, *enterobacter*, *Escherichia coli*, *haemophilus*, *klebsiella*, *morganella*, *pasteurella*, *proteus*, *salmonella*, *shigella*.
- Anaérobie : *peptostreptococcus*.
- Autres : *Mycobacterium* (sauf *tuberculosis*, *avium intracellulare*), *borrelia*, *Isospora belli*, *Pneumocystis carinii*, *spirochètes*, *toxoplasma*.

**Espèces résistantes :**

- Aérobie à **Gram +** : *Mycobacterium avium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *pseudomonas*.

### I.3.7. Pharmacocinétique

- ✓ **Absorption**

Administrés par voie orale, le sulfaméthoxazole et le triméthoprim sont rapidement absorbés à 90 %. Les concentrations plasmatiques sont atteintes en 2 à 4 heures (**Dictionnaire CRD, 2005**).

**✓ Distribution**

Après administration orale d'une seule dose de l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole, les concentrations plasmatiques maximales sont comprises entre 40 et 60 µg/ml pour le sulfaméthoxazole et entre 1 et 2 µg/ml pour le triméthoprime.

La demi-vie du sulfaméthoxazole est de 9 à 11 heures et celle du triméthoprime de 10 à 12 heures. Ce médicament diffuse rapidement dans les tissus et dans les sécrétions : le liquide céphalorachidien, l'oreille moyenne, les amygdales et la salive, les poumons et les sécrétions bronchiques, la prostate et le liquide séminal, les sécrétions vaginales, l'os.

La liaison aux protéines plasmatiques est de 66 % pour le sulfaméthoxazole et de 45 % pour le triméthoprime (**Dictionnaire CRD, 2005**).

**✓ Métabolisme**

Dans le sang et l'urine, on retrouve le sulfaméthoxazole sous sa forme initiale et sous forme métabolisée (environ 85%) ; les métabolites seraient bactériologiquement inactifs. On retrouve le triméthoprime principalement sous forme non-métabolisée ainsi que métabolisée (environ 25 %) ; certains métabolites seraient bactériologiquement actifs (**Dictionnaire CRD, 2005**).

**✓ Excrétion**

L'élimination de ce médicament est essentiellement urinaire (80 % de la dose administrée en 72 heures) sous forme métabolisée et sous forme inchangée (20 % pour le sulfaméthoxazole et 50 % pour le triméthoprime). Une partie est excrétée par la bile où les concentrations sont proches des concentrations plasmatiques mais, étant donné la réabsorption intestinale, seule une faible fraction de triméthoprime (4 %) est éliminée dans les fèces. Le sulfaméthoxazole et le triméthoprime sont hémodialysables (**Dictionnaire CRD, 2005**).

**I.4. Concepts liés à la qualité pharmaceutique****I.4.1. Définition de la qualité**

On peut se référer à la définition donnée par l'International Standard Organisation (ISO): « ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites » (**Le Hir et al., 2009**).

**I.4.2. Assurance de la qualité**

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

bonnes pratiques de fabrication mais également d'autres éléments qui sortent du sujet de ce guide (Le Hir *et al.*, 2009).

### **I.4.3. Bonnes pratiques de fabrication**

Constituent un des éléments de l'assurance de la qualité ; elles garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente et selon les normes de qualité adaptées à leur emploi et requises par l'autorisation de mise sur le marché (AMM) (Le Hir *et al.*, 2009).

### **I.4.4. Contrôle de la qualité**

#### **I.4.4.1. Définition**

Il consiste à vérifier le respect des bonnes pratiques de fabrication de laboratoire de contrôle. Le contrôle consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et comparer les résultats obtenus avec les spécifications établies : il s'agit d'une vérification de conformité à des exigences spécifiées dans le dossier d'autorisation de mise sur le marché ou dans les pharmacopées qui permet la libération du lot ou son refus. Le contrôle qualité est le garant de la fiabilité des résultats et de la traçabilité des lots (Wehrlé, 2007).

#### **I.4.4.2. But du contrôle de la qualité**

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

#### **I.4.4.3. Contrôle qualité des médicaments**

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

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

**I.4.4.4. Différents types de contrôles de qualité****a) Contrôle physico-chimique**

Il est d'une grande importance de connaître les propriétés physico-chimiques des produits pharmaceutiques, qui permettront de déterminer la qualité des produits, dont les principaux caractères sont les suivants :

- Caractères organoleptiques : le goût, l'odeur...
- Vérification visuelle de l'aspect du contenu : couleur, consistance...
- Connaissance de la solubilité du principe actif dans l'eau à différents pH ;
- Dosage du principe actif et des autres ingrédients ;
- Stabilité, qui est la connaissance du degré de la résistance du principe actif et d'autres constituants du médicament aux variations de la température et d'humidité, en fonction du temps (**Lekhal et Assad, 2012**).

**b) Contrôle microbiologique**

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué, et minimisent les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication (**Scriban, 1999**). Les essais microbiologiques ont été conçus pour le dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et des levures capable de croître en aérobiose. Ces essais sont en premier lieu destinés à déterminer, si un produit faisant l'objet d'une monographie de la pharmacopée satisfait aux exigences microbiologiques spécifiées dans cette monographie. Le choix de la méthode est déterminé par des facteurs, tels que la nature du produit et le nombre de microorganismes présumé. Quelle soit la méthode choisie, elle doit être convenablement validée (**PE, 2017**).

**c) Contrôle toxicologique**

La toxicologie (des mots grecs *toxikon* signifiant poison et *logos* science) est l'étude des poisons, leurs identifications et leurs effets. Etant donné que tous les médicaments à une certaine dose peuvent être des poisons, la toxicologie réfère également à l'étude de la toxicité des médicaments (**Léonard et Ben Amar, 2002**).

**I.4.4.5. Autorisation de mise sur le marché**

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé « **OMS** » (**2000**), L'autorisation de la mise sur le marché est un document officiel émis par l'autorité de santé compétente de réglementation pharmaceutique, destiné à autoriser la commercialisation d'un produit après évaluation de son innocuité, de son efficacité et de sa qualité.

Cette autorisation renferme des données scientifiques et techniques issues du développement du médicament (nom du produit, la forme et la formule galénique, caractéristiques de conditionnement, conditions de stockage... etc).

**I.4.5. Le procédé de fabrication de PRIMAZOL® 400mg/80mg**

Les différentes étapes de fabrication de PRIMAZOL® 400mg/80mg sont résumées dans l’organigramme suivant :

**Tableau IV : Procédé de fabrication de PRIMAZOL® 400mg/80mg au niveau d’unité BIOTIC (Dossier pharmaceutique de SAIDAL, 2010)**

| <b>Chronologie des opérations</b>       | <b>Étapes</b> | <b>Contrôle en cours</b>   |
|---|---------------|--|
| Tamisage et pesée                       | 1             | Conformité   |
| ↓                                       |               |  |
| Mélange des deux principes actifs       | 2             | Temps de mélange 10 minutes                                      |
| ↓                                       |               |  |
| Préparation de la solution de mouillage | 3             | Absence de grumeaux  |
| ↓                                       |               |  |
| Mouillage                               | 4             | Absence de grumeaux  |
| ↓                                       |               |  |
| Granulation                             | 5             | Aspect de la masse granuleuse                                    |
| ↓                                       |               |  |
| Séchage                                 | 6             | Température 50°C, taux d’humidité                                |
| ↓                                       |               |  |
| Calibrage                               | 7             | Aspect et poids du grain   |
| ↓                                       |               |  |
| Lubrification                           | 8             | Temps de mélange   |
| ↓                                       |               |  |
| Compression                             | 9             | Poids moyen, dureté, friabilité, délitement, uniformité de masse |
| ↓                                       |               |  |
| Conditionnement                         | 10            | Conformité, étanchéité   |

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire de contrôle de qualité au niveau de l'unité BIOTIC de SAIDAL (Gué de Constantine –ALGER), dont l'objectif :

Consiste à contrôler la conformité d'un comprimé non obligatoirement stérile PRIMAZOL® 400mg/80mg du point de vue physico-chimique, microbiologique et toxicologique.

Il faut cependant préciser qu'en raison de la crise sanitaire nous ne sommes pas parvenues à aller au bout de nos manipulations, ainsi, les méthodes présentés dans les parties suivantes (II.2.2.2. Contrôle du produit fini, II.2.3. Contrôle microbiologique du produit fini et II.2.4. Contrôle toxicologique du produit fini).

## **II. Matériel et méthodes**

### **II.1. Matériel**

#### **II.1.1. Matériel non biologique :** (voir annexe 01).

##### **❖ Matières utilisées**

- **Matières premières** : principes actifs : Sulfaméthoxazole 400mg et Triméthoprime 80mg.
- **Produit fini** : comprimé de PRIMAZOL 400mg/80mg.

**II.1.2. Matériel biologique :** 5 souris albinos de sexe male dont le poids varie de 17 à 24g pour chaque souris, provenant de l'élevage usine SAIDAL Gué de Constantine.

### **II.2. Méthodes**

#### **II.2.1. Echantillonnage**

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

- la date de prélèvement
- la quantité prélevée
- le numéro de lot et l'identification du produit

#### **II.2.2. Contrôle physico-chimique**

##### **II.2.2.1. Matières premières**

**A/ Principe actif : Sulfaméthoxazole 400mg ou 4-Amino-N-(5-méthylisoxazol-3-yl) benzène sulfonamide**

Les différentes méthodes de contrôle physico-chimique utilisées pour réaliser ce travail, sont celles préconisées par la **PE 2017**.

**A/1. Caractères**

Ces essais consistent à déterminer la forme, l'aspect, la couleur ainsi que la solubilité de la substance à examiner dans les différents solvants préconisés (Wherlé, 2007).

**➤ Aspect****❖ Mode opératoire :**

- on prend une petite quantité de la poudre de sulfaméthoxazole 400mg et la mettre sur une feuille blanche, puis on observe son aspect à l'œil nu.

**➤ Solubilité**

- ✓ **Principe :** La solubilité d'une substance à une température donnée est la quantité maximale de la substance qui peut être dissoute dans une quantité donnée de solvant de cette température (Ayadim et Habib, 2013).

**❖ Mode opératoire :**

- On introduit séparément 1g de la poudre de sulfaméthoxazole dans cinq tubes à essais
- on ajoute 2ml : d'eau dans le premier tube, d'acétone dans le deuxième, d'éthanol à 96% dans le troisième, d'hydroxyde de sodium dilué (NaOH) dans le quatrième et d'acide chlorhydrique (HCL) dilué dans le dernier tube.
- on agite énergiquement à l'aide d'un vortex et on observe ensuite le degré de solubilité de chaque solvant à l'œil nu.

**A/2. Tests d'identification****➤ Points de fusion**

- ✓ **Principe :** Le point de fusion déterminé par la méthode au tube capillaire correspond à la température à laquelle la dernière particule solide de substance introduite dans un tube en colonne compacte passe à l'état liquide.

**❖ Mode opératoire :**

- 1g de sulfaméthoxazole a été desséché sous vide pendant 24h.
- On introduit une quantité de la substance dans un tube capillaire pour former une colonne compacte d'une hauteur de 6mm à 10mm.
- On chauffe l'appareil jusqu'à obtention d'une température d'environ 158.9°C (10°C inférieur au point de fusion) et réglé ensuite la vitesse de chauffage à environ 1°C/min.
- On place le tube capillaire préparé dans l'appareil.
- On note la température à laquelle la dernière particule passe à l'état liquide.

**Norme :** la substance à examiner est conforme si le point net moyen obtenu varie entre 169°C et 172°C.

➤ **Spectrophotomètre d'absorption dans l'infrarouge (IR)**

✓ **Principe :** Il consiste à placer une petite quantité de la poudre d'échantillon dans le spectrophotomètre PERK IN ELMER qui donne un spectre caractéristique.

❖ **Mode opératoire :**

- On nettoie la plaque de l'accessoire UATR par l'acétone.
- On place la poudre à analyser dans la plaque, puis on Pousse l'accessoire UATR fermement.
- On lance l'analyse par le système informatique.
- A la fin on compare le spectre obtenu avec le spectre de référence.

**A/3. Essai**

➤ **Aspect de la solution**

❖ **Mode opératoire :**

✓ **Préparation de la solution à analyser :**

- On dissolvé 1g de sulfaméthoxazole dans un mélange de 5ml de solution dilué d'hydroxyde de sodium et de 5ml d'eau R.

✓ **Préparation de la solution étalon JB (Jaune-brun) :**

- On mélange 2.4ml de solution jaune, 1ml de solution rouge, 0.4ml de solution bleue et 6.2ml d'acide chlorhydrique à 10g/l de HCl.

✓ **Préparation de la solution témoin JB<sub>5</sub> :**

- On prépare le témoin avec 12.5ml de solution étalon JB et 87.5ml d'acide chlorhydrique à 10g/l de HCl.

A la fin on compare la solution analysé avec la solution témoin JB<sub>5</sub> par un simple examen visuel.

**Norme :** la substance examinée est conforme si la solution à examiner est limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB<sub>5</sub>.

➤ **Perte à la dessiccation**

✓ **Principe :** la perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage.

❖ **Mode opératoire :**

- On procède à la pesée de capsule vide préalablement desséchée à l'étuve.

- On pèse 1g de sulfaméthoxazole dans la capsule tarée et par la suite on place l'ensemble dans une étuve à 105°C pendant 4 heures.
- Après refroidissement pendant 15 minutes dans un dessiccateur, on pèse la capsule.
- le pourcentage de la perte à la dessiccation est calculé par la formule suivante :

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

Avec : **Pd** : perte à la dessiccation (%).

**Pv** : poids de capsule vide (g).

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

**Pf** : poids de capsule final (g).

**Norme** : la perte à la dessiccation est au maximum de **0.5%**.

### ➤ Cendres sulfuriques

#### ❖ Mode opératoire :

Un creuset vide de platine a été séché dans un four à moufle à 600°C pendant 30 min, après le refroidissement dans un dessiccateur, le creuset a été pesé, ensuite 1g de sulfaméthoxazole a été introduit dans le creuset et pesé, la substance a été humectée par 1ml d'acide sulfurique ; le creuset a été chauffé sur plaque chauffante à une température aussi faible que possible, jusqu'à carbonisation complète de l'échantillon, après refroidissement le résidu a été humecté avec un peu d'acide sulfurique ( généralement 1ml). L'ensemble a été chauffé doucement jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches, puis a été calciné dans un four à 600°C pendant 4heures. Après ce temps le creuset a été refroidit dans un dessiccateur, puis pesé à nouveau et calculé le pourcentage de résidu.

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

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

Avec : **Cs** : cendres sulfuriques (%).

**Pf** : poids de creuset final (g).

**Pv** : poids de creuset vide (g).

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

**Norme** : les cendres sulfuriques est au maximum de **0.1%**.

**B/ Principe actif : Triméthoprimine ou 5-(3,4,5, trimethoxybenzyl) pyrimidine-2-4-diamine.**

Les méthodes de contrôle sont celles préconisées par la **PE 2017**.

**B/1. Caractères****➤ Aspect****❖ Mode opératoire :**

- On prend une petite quantité de la poudre de triméthoprimine 80mg et la mettre sur une feuille blanche, puis on observe son aspect à l'œil nu.

**➤ Solubilité****❖ Mode opératoire :**

- On introduit une quantité de 1g de la poudre de triméthoprimine dans deux tubes à essais.
- On ajoute 2ml : d'eau dans le premier tube et d'éthanol à 96% dans le deuxième tube.
- On agite chacun des deux tubes.
- La lecture est effectuée par un simple examen visuel.

**B/2. Identification par Spectrophotomètre d'absorption dans l'infrarouge (IR)**

Il consiste à placer une petite quantité de la poudre d'échantillon dans le spectrophotomètre PerkinElmerTow qui donne un spectre caractéristique.

**❖ Mode opératoire :**

- On nettoie la plaque de l'accessoire UATR par l'acétone.
- On place la poudre à analyser dans la plaque, puis on Pousse l'accessoire UATR fermement.
- On lance l'analyse par le système informatique.
- A la fin on compare le spectre obtenu avec le spectre de référence.

**B/3. Essai****➤ Aspect de la solution****❖ Mode opératoire :**

- ✓ **Préparation de la solution à analyser :**

- On mélange 1 volume d'eau R, 4.5 volumes de méthanol R et 5 volumes de chlorure de méthylène R.
- On dissolvé 0.5g de triméthoprime dans 10 ml du mélange préparé.
- ✓ **Préparation de la solution étalon JB :**
- On mélange 2.4ml de solution jaune, 1ml de solution rouge ,0.4ml de solution bleue et 6.2ml d'acide chlorhydrique à 10g/l de HCl.
- ✓ **Préparation de la solution témoin JB<sub>7</sub> :**
- On prépare le témoin avec 2.5ml de solution étalon JB et 97.5ml d'acide chlorhydrique à 10g/l de HCl.

A la fin on compare la solution analysé avec la solution témoin JB<sub>7</sub> par un simple examen visuel.

**Norme :** la substance examinée est conforme si la solution à examiner n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB<sub>7</sub>.

➤ **Perte à la dessiccation**

❖ **Mode opératoire :**

- On procède à la pesée de capsule vide préalablement desséchée à l'étuve.
- On pèse 1g de triméthoprime dans la capsule tarée et par la suite on place l'ensemble dans une étuve à 105°C pendant 4 heures.
- Après refroidissement pendant 15 minutes dans un dessiccateur, on pèse la capsule.
- le pourcentage de la perte à la dessiccation est calculé par la formule suivante :

Avec : **Pd** : perte à la dessiccation (%).

**Pv** : poids de capsule vide (g).

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

**Pf** : poids de capsule final (g).

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

**Norme :** la perte à la dessiccation est au maximum de **1%**.

➤ **Cendres sulfuriques**

❖ **Mode opératoire :**

Un creuset vide de platine a été séché dans un four à moufle à 600°C pendant 30 min, après le refroidissement dans un dessiccateur, le creuset a été pesé, ensuite 1g de

triméthoprime a été introduit dans le creuset et pesé, la substance a été humectée par 1ml d'acide sulfurique ; le creuset a été chauffé sur plaque chauffante à une température aussi faible que possible, jusqu'à carbonisation complète de l'échantillon, après refroidissement le résidu a été humecté avec un peu d'acide sulfurique ( généralement 1ml). L'ensemble a été chauffé doucement jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches, puis a été calciné dans un four à 600°C pendant 4heures. Après ce temps le creuset a été refroidit dans un dessiccateur, puis pesé à nouveau et calculé le pourcentage de résidu.

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

Avec : **Cs** : cendres sulfuriques (%).

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

**Pf** : poids de creuset final (g).

**Pv** : poids de creuset vide (g).

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

**Norme** : les cendres sulfuriques est au maximum de **0.1%**.

### ➤ Dosage

#### ❖ Mode opératoire :

- On introduit 0.250g de triméthoprime dans un erlenmeyer, puis on ajoute 50ml d'acide acétique anhydre R.
- On titre par l'acide perchlorique 0.1M (1ml d'acide perchlorique correspond à 29.03mg de  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ ).
- On détermine le point de titrage par potentiomètre.
- Le taux de dosage est obtenu par le calcul selon l'équation suivante :

Avec : **Dg** : Dosage (%).

$$Dg\% = \frac{V \times CT \times M}{Pe \times (100 - Pd)} \times 100$$

**V** : Volume de l'acide perchlorique.

**CT** : Correspondance (29.03mg).

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

**Pd** : Perte à la dessiccation (%).

**Norme** : **98.5% ≤ Dg ≤ 101.0%**.

### II.2.2.2. Contrôle du produit fini

Le contrôle de produit fini « PRIMAZOL® 400mg/80mg » est basé sur l'aspect, le poids moyen, uniformité de masse, friabilité, temps de délitement et le dosage selon la **PE 2017**.

➤ **Caractères**

**Aspect et couleur** : est déterminés par simple examen visuel.

➤ **Poids moyen**

- A l'aide d'une balance précise, on effectue la pesée sur 10 comprimés à la fois, ensuite on calcule le poids moyen.

$$PM = Pt/10$$

Avec : **PM** : poids moyen.

**Pt** : poids total des comprimés.

**Limite : 484.5mg à 535.5mg.**

➤ **Uniformité de masse**

**Principe** : assurer que la répartition de chaque dose unitaire dans un échantillon d'une forme pharmaceutique est uniforme et conforme à la limite d'acceptation.

❖ **Mode opératoire** :

- A l'aide d'une balance précise, on pèse individuellement 20 comprimés prélevés au hasard du lot contrôlé.
- On détermine la masse moyenne de ces 20 Cp à laquelle on compare la masse individuelle de chaque Cp.

La masse moyenne correspond à la moyenne des pesés effectués sur 20 comprimés.

Avec : **MM** : masse moyenne.

**P1** : poids du premier comprimé.

**P2** : poids du deuxième comprimé.

**P20** : poids du 20<sup>ème</sup> comprimé.

**N** : nombre des comprimés pesés.

$$MM = \frac{P1 + P2 + \dots + P20}{N}$$

Les résultats du test d'uniformité de masse sont exprimés en pourcentage selon les deux formules suivantes :

$$T1 = \frac{MM \times 5}{100}; T2 = \frac{MM \times 10}{100}$$

$$MM \pm T1; MM \pm T2$$

Avec : **MM** : masse moyenne.

**T1, T2** : pourcentage de l'uniformité de masse.

**5%, 10%** : Ecartement de MM.

**Limite d'acceptation** : la masse individuelle de 2 au plus des 20 comprimés peut d'écarter de la masse moyenne de 5%, mais la masse d'aucune unité ne peut s'écarter de plus de 10%.

### ➤ Test de Friabilité

Le test de friabilité permet de s'assurer que les Cp présentent une résistance mécanique suffisante, pour que leurs surfaces ne soient pas endommagées ou ne présentent pas des signes d'abrasion ou de rupture, sous l'effet de toutes les manipulations (chocs mécanique, frottements, attrition) qu'ils vont subir jusqu'au moment de leur utilisation (Koissi, 2008).

Ce test est effectué grâce à un friabilimètre constitué d'un tambour rotatif transparent, l'une des faces du tambour est amovible. A chaque rotation les Cp roulent ou glissent et tombent sur la paroi ou les uns sur les autres où ils vont subir des frottements et des chutes pendant un temps déterminés, dont la vitesse de rotation est de 25 tours/minute.

- ✓ **Principe** : Le test de friabilité appliqué à un certain nombre de Cp, consiste à apprécier la perte de masse de ces Cp, sous l'effet des frottements et des chutes qui leurs ont été imposés dans certaines conditions (Koissi, 2008).

### ❖ Mode opératoire :

- On pèse un nombre de comprimés entiers correspond à une masse de 6.5g, puis les introduire à l'intérieur du tambour.
- L'appareil a été réglé à 100 tours pendant 4 minutes, on met l'appareil en marche.
- On récupère les Cp, on élimine les poussières et les repeser

Le résultat de friabilité est exprimé en termes de perte de masse et calculé en pourcentage de la masse initiale.

$$F = [(P_i - P_f) / P_i] \times 100$$

Avec : **F** : friabilité (%)

**P<sub>i</sub>** : point initial de comprimés (g).

**P<sub>f</sub>** : point final de comprimés (g).

**Limite : F ≤ 1%.**

### ➤ Temps de désagrégation

- ✓ **Principe :** Le test de désagrégation appliqué aux Cp est destiné à déterminer leur plus ou moins grande aptitude à se désagréger en milieu liquide, dans un temps prescrit et dans des conditions expérimentales bien définies.

#### ❖ Mode opératoire

- L'appareil comprend six tubes munis chacun d'un disque facilitant la désagrégation.
- L'assemblage est placé dans un vase cylindrique rempli avec l'eau distillée.
- La température du milieu aqueux doit être maintenue à 37°C.
- On place un comprimé dans chacun des 6 tubes de l'appareil et on introduit les disques, puis on fait fonctionner l'appareil pendant 15 minutes.
- Les comprimés sont soumis à un mouvement d'agitation régulier jusqu'à désagrégation complète
- On note le temps de désagrégation.

**Limite : ≤ 15 minutes.**

### ➤ Dosage par chromatographie haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est une technique de séparation chromatographique reposant sur la distribution différentielle des espèces à séparer entre deux phases non miscibles, une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile liquide qui traverse, par percolation, cette phase stationnaire ( **PE, 2017**).

#### ✓ Principe :

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne

chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (Colomb, 2010).

#### ❖ Mode opératoire

##### ✓ Préparation de solution témoin :

- On dissout 81.20mg de sulfaméthoxazole et 17.60mg de triméthoprime dans une fiole contenant le méthanol et on complète à 50ml avec le même solvant.
- On fait une dilution à  $1/10^{\text{ème}}$  avec la phase mobile.

##### ✓ Préparation de solution à examiner :

- On dissout 100mg de poudre de comprimé dans le méthanol et on complète à 50ml avec le même solvant et on filtre.
- On dilue la solution à  $1/10^{\text{ème}}$  avec la phase mobile.

##### ✓ Préparation de la phase mobile à un débit de 2ml/min :

- On mélange 700ml d'eau, 200ml d'acetonitrile et 1ml de triéthylamine.
- On ajuste le PH à 5.9 avec l'acide acétique à 1% ou NaOH à 0.2N et on complète le volume à 1000ml avec l'eau distillé puis on filtre et on dégazéfie.

##### ✓ Conditions chromatographiques :

- Colonne : gel de silice octadécylsilysé pour chromatographie ( $5\mu\text{m}$ )
- Dimensions de la colonne :  $l=250\text{mm}$ ,  $\text{Ø}=4.6\text{mm}$ .
- Phase mobile : à un débit de 2ml/min
- Détecteur : un spectrophotomètre UV réglé à  $\lambda=254\text{nm}$ .
- Volume d'injection :  $20\mu\text{l}$ .

**Formule de calcul :** la teneur en sulfaméthoxazole et triméthoprime par comprimé est donnée par les formules suivantes :

$$T\left(\frac{mg}{cp}\right) \text{ sulfaméthoxazole} = \frac{Se \text{ SMX} \times Pt \text{ SMX} \times MM}{St \text{ SMX} \times P} \times Te \text{ SMX}$$

$$T\left(\frac{mg}{cp}\right) \text{ triméthoprime} = \frac{Se \text{ TMP} \times Pt \text{ TMP} \times MM}{St \text{ TMP} \times P} \times Te \text{ TMP}$$

Avec :

**Se :** surface du pic obtenu avec la solution à examiner.

**St :** surface du pic avec la solution témoin.

**Pt :** prise d'essai en (mg/ml).

**P :** prise d'essai de poudre de comprimé.

**MM :** masse moyenne du comprimé.

**Te :** le titre (étalon de référence interne).

**Limite :** T (sulfaméthoxazole) est de **370 à 430 mg / cp**.

T (triméthoprime) est de **74 à 86 mg / cp**.

➤ **Test de dissolution : par chromatographie liquide à haute performance :**

Le test de dissolution in vitro appliqué aux comprimés, permet de s'assurer qu'une fois administrés, ces derniers libéreront le principe actif contiennent, pour le mettre à la disposition de l'organisme, et ceci dans les limites de concentration et de vitesse déterminées, afin de garantir l'effet thérapeutique désiré.

Le test de dissolution permet aussi de démontrer la reproductibilité du procédé de production, la conformité du produit fini avec les lots précédents.

✓ **Principe :**

L'essai de dissolution est destiné à déterminer leur plus ou moins grande aptitude à laisser passer en solution dans un milieu déterminé, le ou les principes actifs qu'ils contiennent. Le passage en solution est apprécié par dosage du principe actif dans des échantillons prélevés dans le milieu de dissolution à intervalle de temps différents.

**❖ Mode opératoire :****✓ Condition de dissolution :**

- L'appareil : Dissolu-test ERWEKA à 6 vases.
- Milieu de dissolution : solution d'acide chlorhydrique 01N.
- Vitesse d'agitation : 75 tours/min.
- Volume du milieu : 900ml.
- Temps de dissolution : 60min.
- Température :  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$
- Système : palette.

**✓ Préparation de solution témoin :**

- On dissout 81.20mg de sulfaméthoxazole et 17.60mg de triméthoprime dans une fiole contenant le méthanol et on complète à 50ml avec le même solvant.
- On fait une dilution au  $1/10^{\text{ème}}$  avec la phase mobile.

**✓ Préparation de solution essai :**

- On pèse et on place un Cp dans chaque vase du dissolu-test.
- On procède à la dissolution pendant 1h.
- On prélève 20ml de chaque vase tout en filtrant
- On injecte 20 $\mu$ l de chaque filtrat dans l'injecteur automatique d'HPLC.

**✓ Préparation de la phase mobile à un débit de 2ml/min :**

- On mélange 700ml d'eau, 200ml d'acetonitrile et 1ml de triéthylamine.
- On ajuste le PH à 5.9 avec l'acide acétique à 1% ou NaOH à 0.2N et on complète le volume à 1000ml avec l'eau distillé puis on filtre et on dégazéifie.

**✓ Conditions chromatographiques :** On peut réaliser le dosage à l'aide de :

- Une colonne en acier inoxydable d'une longueur de 25cm et d'un diamètre intérieur de 4.6mm.
- Une phase mobile à un débit de 2ml/min.
- Un détecteur : un spectrophotomètre UV réglé à 254 nm.
- Volume d'injection : 20 $\mu$ l.

**Formule de calcul :** Pour calculer la teneur en sulfaméthoxazole et triméthoprime on a recours aux formules suivantes :

$$X = \frac{\text{Surface SMX de l'essai}}{\text{Surface SMX de témoin}} \times \frac{Pet}{50} \times \frac{1}{10} \times \frac{900}{Pec} \times PM$$

$$Y = \frac{\text{Surface TMP de l'essai}}{\text{surface TMP de témoin}} \times \frac{Pet}{50} \times \frac{1}{10} \times \frac{900}{Pec} \times PM$$

$$TD\% = \frac{X + Y}{480} \times 100$$

Avec : **TD**: taux de dissolution.

**PM** : poids moyen.

**Pet** : prise d'essai de témoin.

**X** : dose du SMX.

**Pec** : poids d'un comprimé.

**Y** : dose du TMP.

**Norme** : TD %  $\geq$  70%.

### II.2.3. Contrôle microbiologique

#### II.2.3.1. Contrôle microbiologique de produit fini PRIMAZOL® 400mg/80mg

Dans notre travail, nous avons effectué un contrôle de pureté microbienne des comprimés selon la **PE 2017**.

L'analyse doit réaliser ce contrôle par :

- Le dénombrement des germes aérobies viables totaux : **levures, moisissures et les bactéries.**
- La recherche des micro-organismes spécifiques : **Entérobactéries et *Escherichia coli*.**
- La recherche des germes pathogènes : ***Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et Salmonelles.**

#### ➤ Recherche des germes aérobies viables totaux

##### ❖ Mode opératoire :

- ✓ Préparation de l'échantillon :

- On prélève 10g (20Cp) à partir d'un mélange moyen des échantillons et les diluer dans 90ml de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7.0 contenant de tween.
- On homogénéise pour obtenir « l'homogénéisât A », c'est la dilution 1/10 ( $10^{-1}$ ).
- On effectue deux autres dilutions au 1/10, à partir de la première dilution dans la même solution tampon, pour obtenir les dilutions  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ .
- ✓ **Ensemencement en profondeur :**
  - On utilise des boîtes d'un diamètre de 90mm.
  - On introduit dans chacune d'elles 1ml de la dilution préparée d'échantillon à contrôler
  - On ajoute 15ml à 20ml (à une température ne dépassent pas 45°C) d'un milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja liquéfié pour les bactéries et 15ml à 20ml (à une température ne dépassant pas 45°C) d'un milieu gélosé Sabouraud-glucosé avec antibiotiques liquéfié pour les levures et les moisissures.
  - On prépare au moins deux boîtes de pétri par dilution et par milieu.
  - On incube à 30-35°C pour les bactéries pendant 48h, et à 20-25°C pour les levures et les moisissures, pendant 5 jours.

**Lecture :**

- ✓ On sélectionne les boîtes correspondant à une dilution et présentant le plus grand nombre de colonies inférieur à 300 (100 pour les levures et moisissures).
- ✓ On fait la moyenne arithmétique des dénombrements des deux boîtes de la dilution sélectionnée ensuite on calcule le nombre d'unités format colonie par gramme de produit en multipliant par l'inverse de la dilution sélectionnée.

**➤ Recherche des micro-organismes spécifiques****1. Les Entérobactéries :**

On effectue la détection ou l'évaluation quantitative des Entérobactéries.

**❖ Mode opératoire :****A/ Détection des bactéries**

**✓ Pré-enrichissement :**

- On prélève 10g (20Cp) du produit et les diluer dans 100ml de bouillon lactosé c'est « l'homogénéisât B ».
- On homogénéise et on incube le flacon à 35-37°C pendant 2h à 5h pour revivifications.

**✓ Enrichissement :**

- On prélève à l'aide d'une pipette gradué stérile 1ml de homogénéisât B.
- On introduit dans un tube contenant 9ml de bouillon Mossel (dilution  $10^{-1}$ ).
- On effectue deux autres dilutions au 1/10 à partir de la première dilution dans bouillon Mossel.
- On incube toutes les dilutions à 30-35°C pendant 24 à 48h.

**Lecture :** si les tubes ne présentent aucun trouble microbien et aucun virage de couleur, ils sont considérés comme négatifs (-), alors il y'a absence d'Entérobactéries. Mais, si les tubes présentent un trouble microbien et un virage de couleur, ils sont considérés comme positifs (+) pouvant contenir des Entérobactéries, on procède alors à un repiquage.

**B/ Evaluation quantitative****✓ Repiquage :**

- On prélève quatre gouttes à partir des tubes (+) et à l'aide d'une pipette stérile on ensemence en profondeur sur la gélose gélose à la bile-violet cristallisé-rouge neutre avec glucose (VRBG).
- On incube les boîtes à 30-35°C pendant 24h à 48h.

**Lecture :** la croissance des colonies rouge avec un halo rougeâtre révèle la présence des Entérobactéries. Le dénombrement se fait selon la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP).

**2. *Escherichia coli* :**

- On prélève à l'aide d'une pipette gradué stérile 10ml de l'homogénéisât A.
- On introduit dans un flacon contenant 100ml de milieu liquide eau peptonée de caséine et de soja (CASO).

- On homogénéise et on incube à 30-35°C pendant 24h à 48h.
- On agite le récipient puis on prélève 1ml et l'introduire dans un flacon contenant 100ml du milieu liquide de Mac Conkey.
- On incube à 43- 45°C pendant 24h à 48h.
- On effectue des subcultures sur deux boîtes de milieu gélosé de Mac Conkey.
- On incube à 30-35°C pendant 24-72h.

**Lecture :** la croissance des colonies rouge non mucoides, de bactéries en bâtonnets indique la présence d'E coli, qui est confirmé par des tests biochimiques appropriés.

➤ **Recherche des germes pathogènes**

**1. *Staphylococcus aureus* :**

❖ **Mode opératoire :**

- On prélève 10ml de l'échantillon à analyser à partir de même « homogénéisât A » et l'introduire dans un flacon de 100ml de milieu liquide eau peptonée de caséine et de soja (CASO)
- On homogénéise et on incube le flacon à 30-35°C pendant 24h à 48h.
- On effectue des subcultures sur gélose Chapman (on prélève 0.1ml de CASO et l'ensemencer sur deux boîtes de pétrie), après 48heures d'incubation.
- On incube les boîtes à une température de 30-35°C pendant 24-72heures.

**Lecture :** leur présence se manifeste par des petites colonies jaunes avec un halo jaune.

**2. *Pseudomonas aeruginosa* :**

❖ **Mode opératoire :**

- On prélève 10ml d'échantillon à partir de même « homogénéisât A » et l'introduire dans 90ml de milieu liquide à la peptone de caséine et de soja.
- On homogénéise et on incube à 30-35°C pendant 24-48h.
- On effectue des subcultures sur milieu gélosé Cétrimide (on prélève 0.1ml de CASO et l'ensemencer sur deux boîtes de pétrie).
- On incube à 30-35°C pendant 24-72h.

**Interprétation des résultats :**

S'il apparaît des colonies à bâtonnets gram négatifs, on ensemence du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja avec une partie de colonies morphologiquement différentes on isole et on incube à 41- 43°C pendant 18- 24h.

Le produit est satisfait à l'essai s'il n'est pas observé des colonies de type décrit ou si les tests biochimiques de confirmation sont négatifs.

**Lecture :** *Pseudomonas aeruginosa* sont des colonies bleues ou bleues vertes fluorescentes sur ceftrimide.

### **3. Salmonelles :**

- On prélève 10g (20cp) à partir d'un mélange moyen des échantillons, les diluer dans 90ml de milieu liquide aux peptones de caséine de soja contenant de tween.
- On homogénéise et on incube à 30-35°C pendant 24h.
- On agite le récipient puis on prélève 1ml et l'introduire dans 9ml de milieu liquide au tetrathionate-bile vert brillant.
- On incube à 41-43°C pendant 24h.
- On effectue des subcultures sur deux boites contenant le milieu gélose- xylose-lysine-desoxycholate.
- On incube à 30-35°C pendant 24-72h.

**Lecture :** la présence des salmonelles se manifeste par des colonies bien développer rouge ou rougeâtre avec ou sans centre noir.

#### **II.2.4. Contrôle toxicologique du produit fini**

Avant toute commercialisation, le médicament est soumis à des essais de toxicité pour confirmer l'innocuité du produit et afin d'éviter les problèmes sanitaires ultérieurs.

C'est un test réalisé *in vivo*, dans le but de relever par méthode biologique la présence d'une ou de plusieurs anomalies de nature variée du produit, afin d'assurer une sécurité supplémentaire du médicament.

#### **✓ Principe :**

Le test consiste à administrer par voie intra-gastrique (orale) à des souris albinos une dose du produit relativement élevée par rapport à la dose thérapeutique afin de déceler la présence d'une ou plusieurs anomalies de nature variée du produit.

#### **❖ Mode opératoire :**

##### **A. Préparation de l'animal :** Sélectionner un lot de 5 souris

- Espèce : souris albinos.
- Origine : élevage CRD / SAIDAL.

- Poids : 17 à 24g.
- Sexe : même sexe (dans notre cas c'est le sexe male).
- Etat physiologique : sains
- Nourriture : granules de production locale et l'eau potable.
- Condition d'élevage : température de 20°C à 24°C, humidité de 50 à 60%.
- Les souris sont mises à jeun la veille du contrôle.

**B. Préparation de l'échantillon :**

- On broie un comprimé de PRIMAZOL 400mg/80mg qui correspond à une concentration de 1200mg/kg, on ajoute 10ml de NaCl à 0.9% et quelques gouttes de tween 80.

**C. Mode d'administration :**

- On administre par voie orale 0.5ml de la solution préparé pour chaque souris (volume maximal toléré pour des souris de 20g) à l'aide d'une seringue de 2ml

**D. Observation :**

- Les souris sont gardées en observation pendant 48heures afin de détecter d'éventuels effets toxiques, ou mortels à la dose administrée.

L'ensemble des méthodes effectuées lors de contrôle de qualité de PRIMAZOL® est résumé dans la figure 04.

### Contrôle physico-chimique

Principe actif :  
Sulfaméthoxazole 400mg

✓ Caractères

Aspect et solubilité

✓ Tests d'identification

Points de fusion et Spectrophotomètre d'absorption dans l'infrarouge (IR).

✓ Essais

Aspect de la solution, Perte à la dessiccation et Cendres sulfuriques

Principe actif :  
Triméthoprime 80mg

✓ Caractères

Aspect et solubilité

✓ Identification par

Spectrophotomètre d'absorption dans l'infrarouge (IR).

✓ Essais

Aspect de la solution, Perte à la dessiccation, Cendres sulfuriques et Dosage.

Produit fini  
PRIMAZOL®

✓ Caractères

✓ Poids moyen

✓ Uniformité de masse

✓ Test de Friabilité

✓ Temps de désagrégation

✓ Dosage par

chromatographie liquide à haute performance HPLC

✓ Test de dissolution par

chromatographie liquide à haute performance HPLC

### Contrôle toxicologique du produit fini

Relever par méthode biologique la présence d'une ou de plusieurs anomalies de nature variée du produit

Recherche des germes aérobies viables totaux

Recherche des micro-organismes spécifiques

Recherche des germes pathogènes

Contrôle microbiologique du produit fini

Figure 04 : Schéma récapitulatif des méthodes de contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique de PRIMAZOL® effectuées.

### III- Résultats et discussion

Tous les résultats présentés dans ce chapitre ont été comparés avec les normes en vigueur de la **PE 2017** et dont les textes définissent des exigences de qualités générales ou spécifiques auxquelles doivent satisfaire les substances pharmaceutiques qui composent les médicaments.

Il faut cependant préciser qu'en raison de la crise sanitaire nous ne sommes pas parvenues à aller au bout de nos manipulations, ainsi, les résultats présentés dans les parties suivantes (**III.1.2.** Contrôle physico-chimique du produit fini PRIMAZOL®, **III.2.** Contrôle microbiologique du produit fini PRIMAZOL® et **III.3.** Contrôle toxicologique du produit fini PRIMAZOL®) sont des résultats attendus.

#### III.1. Contrôle physico-chimique

##### III.1.1. Contrôle physico-chimique des matières premières

Les résultats présentés dans le tableau **VI** représentent nos résultats obtenus suite à un contrôle physico-chimique des matières premières sulfaméthoxazole et triméthoprime (paramètres de caractérisation, d'identification et d'essais) effectué selon la méthodologie recommandée par la **PE 2017**.

##### III.1.1.1- Contrôle physico-chimique du principe actif Sulfaméthoxazole

**Tableau V** : Résultats du contrôle physico-chimique du principe actif sulfaméthoxazole

| Tests               | Lecture   | Norme PE 2017  | Conformité   |
|---------------------|---|--|--|
| <b>Caractères :</b> |   |  | Conformes aux spécifications décrites dans la PE 2017. |
| Aspect              | Poudre cristalline, blanche.  | Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche.  |  |
| Solubilités         | La poudre est insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, assez soluble dans l'éthanol, se dissout dans l'hydroxyde de sodium dilué et dans l'acide chlorhydrique dilué. | Pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, assez soluble dans l'éthanol, se dissout dans l'hydroxyde de sodium dilué et dans l'acide chlorhydrique dilué. |  |

| Identification :                                      |  |  | Conformes aux spécifications décrites dans la PE 2017. |
|---|--|--|--|
| Points de fusion                                      | 169.5 °C.  | 169 à 172 °C.  |  |
| Spectrophotomètre d'absorption dans l'infrarouge (IR) | Spectre d'essai est comparable au spectre de référence (SCR).  | Spectre d'essai correspond en position et en intensité au spectre de référence (SCR).  |  |
| Essais :  |  |  |  |
| Aspect de la solution                                 | La solution est limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB <sub>5</sub> . | La solution est limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin J <sub>5</sub> , JB <sub>5</sub> ou JV <sub>5</sub> . |  |
| Perte à la dessiccation                               | 0.2476%  | ≤0.5%  |  |
| Cendres sulfuriques                                   | 0.0297%  | ≤0.1%  |  |

Les principaux pics du spectre obtenus lors de l'examen d'identification du sulfaméthoxazole sont représentés dans les figures 05 et 06 :

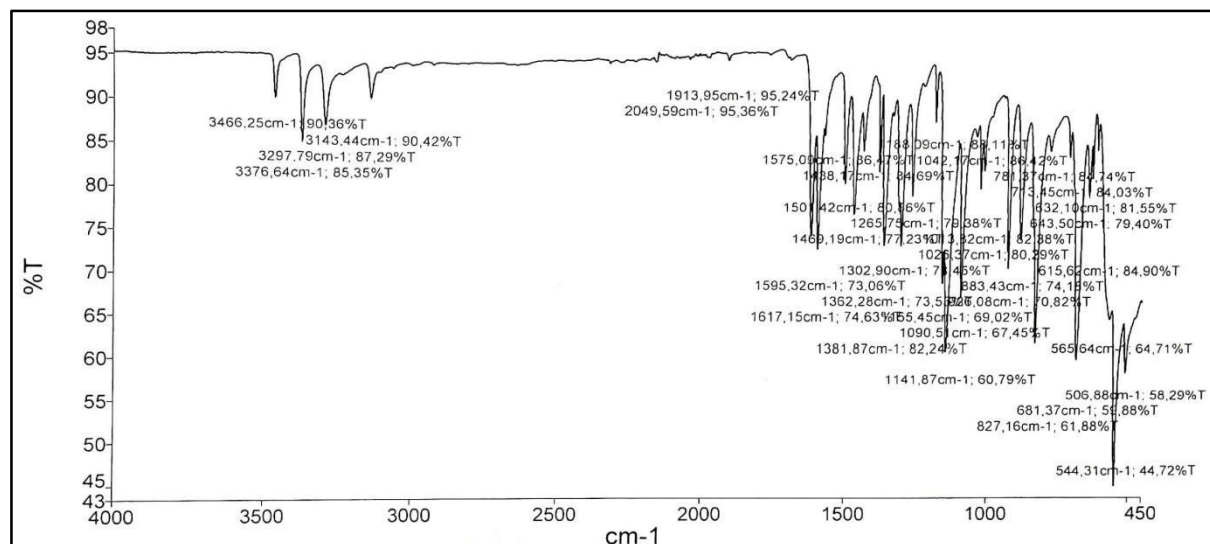
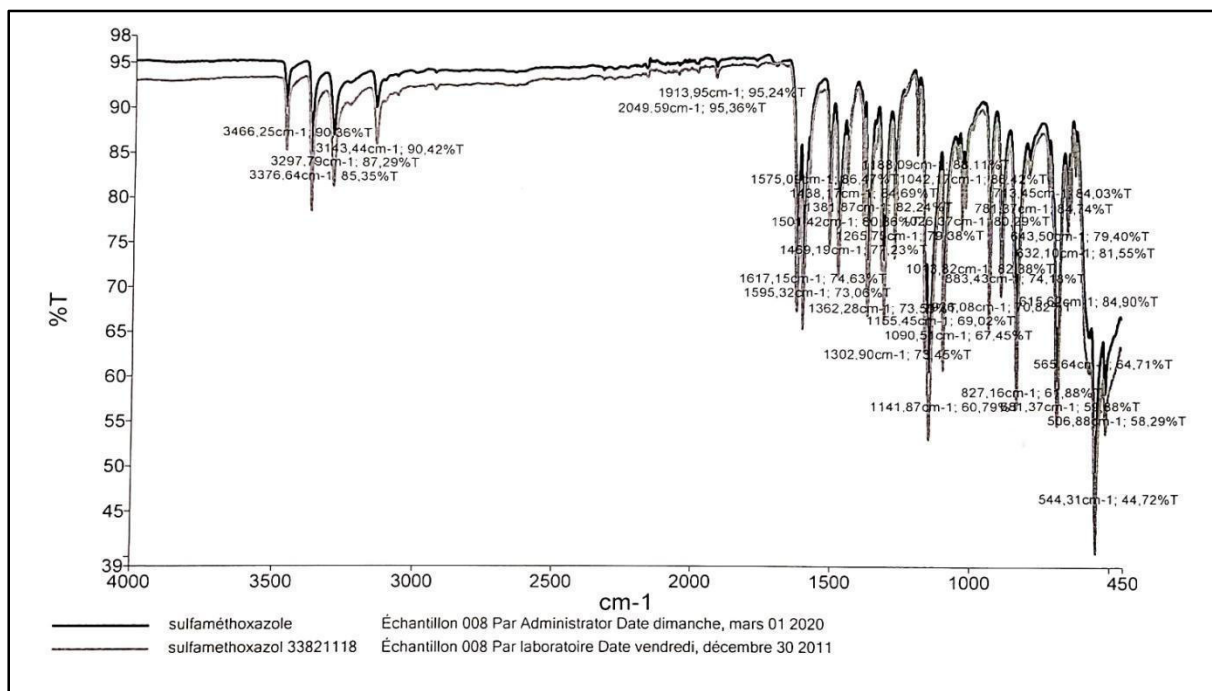


Figure 05 : Spectre d'absorption du sulfaméthoxazole «essai»



**Figure 06 :** Comparaison du spectre d'absorption du sulfaméthoxazole par IR avec sa substance de référence

**III.1.1.2. Contrôle physico-chimique du principe actif Triméthoprime :**

**Tableau VI:** Résultats du contrôle physico-chimique du principe actif triméthoprime.

| Tests   | Lecture  | Normes PE 9.0   | Conformité   |
|---|--|---|--|
| <b>Caractères :</b>                                   |  |   |  |
| Aspect  | Poudre blanche.  | Poudre blanche ou blanc-jaune.  | Conformes aux spécifications décrites dans la PE 2017. |
| Solubilités   | La poudre est très peu soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol. | Très peu soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol.                              |  |
| <b>Identification :</b>                               |  |   |  |
| Spectrophotomètre d'absorption dans l'infrarouge (IR) | Spectre d'essai est comparable au spectre de référence (SCR).          | Spectre d'essai correspond en position et en intensité au spectre de référence (SCR). |  |

| Essais :                |   |   | Conformes aux spécifications décrites dans la PE 2017. |
|-------------------------|---|---|--|
| Aspect de la solution   | La solution n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB <sub>7</sub> . | La solution n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB <sub>7</sub> . |  |
| Perte à la dessiccation | 0.1398%   | ≤ 1%  |  |
| Cendres sulfuriques     | 0.0698%   | ≤ 0.1%  |  |
| Dosage                  | 99.64%  | 98.5% ≤ D <sub>g</sub> ≤ 101.0%   |  |

Les principaux pics du spectre obtenu lors de l'examen d'identification du triméthoprime sont représentés dans les figures (07, 08 et 09) :

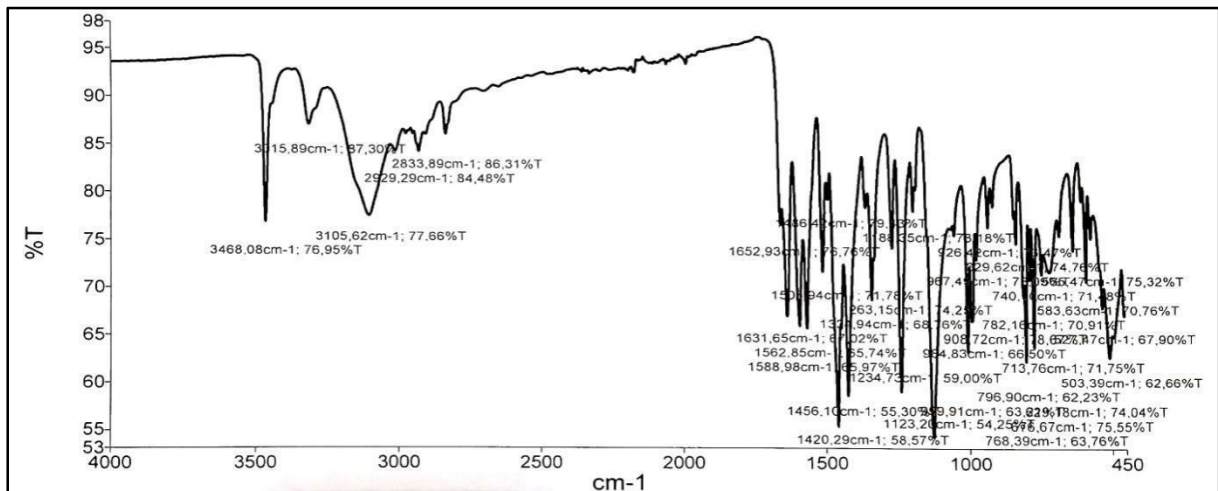


Figure 07 : Spectre d'absorption du triméthoprime «essai»

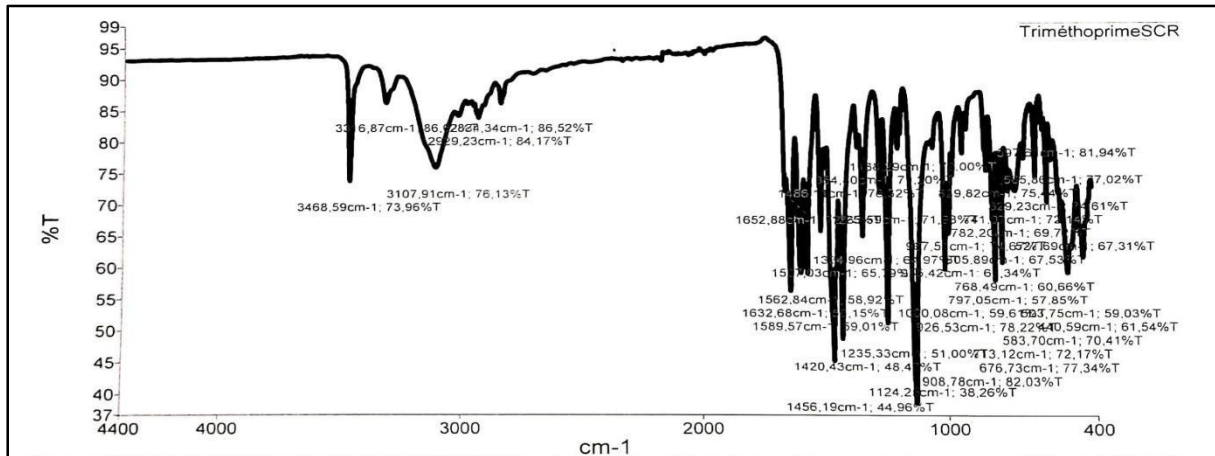


Figure 08 : Spectre d'absorption du triméthoprime SCR par IR

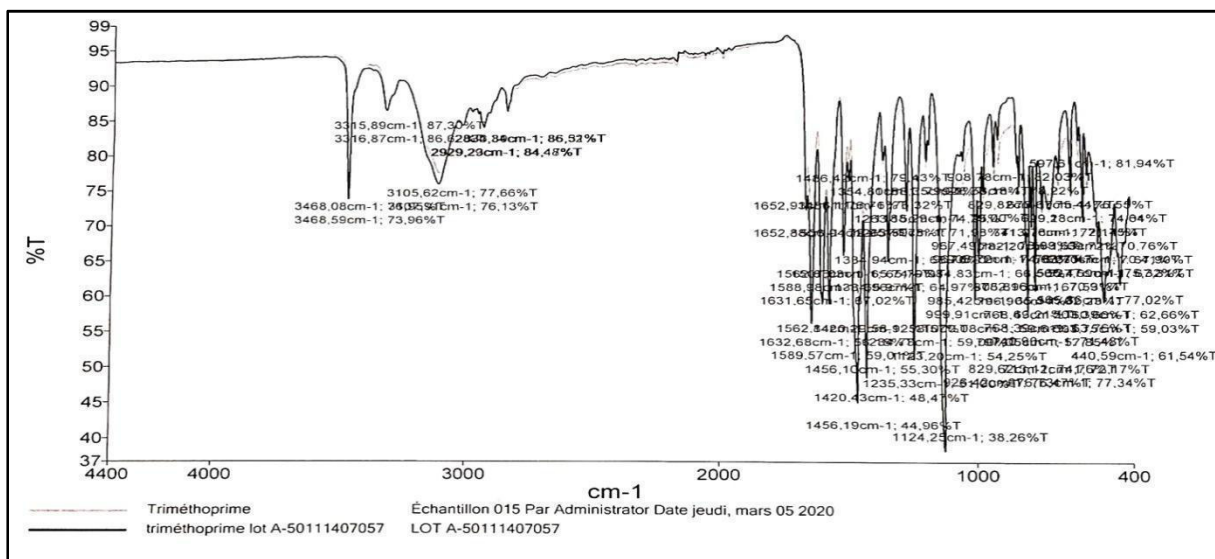


Figure 09 : Comparaison de spectre d'absorption du triméthoprime par IR avec sa substance de référence

Les résultats relatifs à l'aspect et à la solubilité des matières premières corroborent avec les normes de la PE 2017. Ceci est cohérent avec ce qui a été décrit dans les précédentes études de **Benmaadi (2016)** et **Harrache et Atmane (2017)** et **Taibi (2017)**. Ces résultats nous permettent de déduire que les différentes matières analysées sont de bonnes qualités organoleptiques et que leurs conditions de conservations, de transport et de stockage ont été bien respectées et cela pourra être aussi la conséquence d'une bonne purification (**Pradeau, 1992**). La connaissance de la solubilité du principe actif dans l'eau et à différents pH est essentielle car elle oriente le choix de la forme d'administration et joue un grand rôle dans la biodisponibilité (**Le hir et al., 2009**).

L'identification des deux principes actifs a été réalisée grâce a une méthode de spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge. La spectrophotométrie IR est une méthode

conçue pour la vérification de l'identité des substances organiques non ionisées autres que les sels d'acides ou de bases organiques. Elle nécessite dans tous les cas d'utiliser une substance ou un spectre de référence (**Pharmacopée Européenne 2008**).

Les spectres des deux principes actifs par infrarouge ont été comparés avec leur spectre des Substances Chimiques de Référence (SCR). Les résultats obtenus montrent que les spectres sont superposables aux spectres de référence, ce qui va dans le sens des études précédentes réalisées par **Benmaadi (2016)**, **Harrache et Atmane (2017)** et **Taibi (2017)**. L'absorption d'un rayon infrarouge correspond à une interaction des photons avec la molécule ou un groupement fonctionnel de la molécule, ce qui provoque une transition entre les états de la molécule et l'énergie absorbée en fonction de la longueur d'onde donnant un spectre caractéristique de la substance à analyser (**Gavrilovic et al., 1996**) et prouvant que les deux principes actifs sont purs et conformes à la norme.

En plus de la spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge, le sulfaméthoxazole a été identifié par point de fusion, la température obtenue (196.5°C) corrobore avec la norme ainsi qu'avec un point de fusion de 170.8°C (**Harrache et Atmane, 2017**).

Les taux de la perte à la dessiccation sont conformes aux normes. Des résultats similaires ont été obtenus par **Benmaadi (2016)** avec 0,04% pour le sulfaméthoxazole et 0,15% pour le triméthoprime, par **Harrache et Atmane (2017)** avec 0.14% pour le sulfaméthoxazole et 0.16% pour le le triméthoprime et par **Taibi (2017)** avec 0.416% pour le sulfaméthoxazole et 0.28% pour le triméthoprime. Le faible taux de la perte à la dessiccation indique une bonne déshydratation ainsi qu'une bonne conservation des matières premières.

Pour les cendres sulfuriques des deux principes actifs, les taux obtenus sont inférieurs à la limite tolérée qui est de 0,1%. Le faible taux des cendres sulfuriques met en évidence la quantité des matières minérales contenues dans une substance organique (**Pradeau, 1992**). Il nous permet de déduire que les principes actifs ne contiennent pas d'impuretés minérales et de s'assurer de l'absence d'effet toxique. Une conclusion similaire a également été tirée par **Benmaadi (2016)**, **Harrache et Atmane (2017)** et **Taibi (2017)**.

Selon les spécifications décrites dans ces normes européennes, les résultats obtenus pour le dosage du principe actif Triméthoprime, se situent dans l'intervalle de confiance [98,5-101.0], ce qui signifie qu'il est exempt d'impuretés. Ce résultat est cohérent avec les recherches montrant : 99.78% (**Benmaadi, 2016**), 99.74% (**Harrache et Atmane, 2017**) et 99.03% (**Taibi, 2017**).

Il ressort de notre étude que les résultats obtenus du contrôle physico-chimique des matières premières satisfont aux normes exigées par la **PE 2017**, ce qui traduit sa bonne qualité physico-chimique.

**III.1.2. Contrôle physico-chimique du produit fini (PRIMAZOL®):**

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous sont des résultats attendus, ils ont été observés par **Taibi (2017)** suite à un contrôle physico-chimique du produit fini PRIMAZOL® effectué selon la méthodologie recommandée par la **PE 2014**.

**Tableau VII :** Résultats du contrôle physico-chimique du produit fini (PRIMAZOL®)

| Tests                    | Lecture                                  | Normes PE 2017                           | Conformité   |
|--------------------------|--|--|--|
| <b>Caractères :</b>      |  |  | Conformes aux spécifications décrites dans la PE 2017. |
| Aspect et couleur        | Comprimés blancs, semi bombés et lisses. | Comprimés blancs, semi bombés et lisses. |  |
| <b>Essais :</b>          |  |  |  |
| Poids moyen              | 503.5 mg                                 | 484.5 mg à 505.5 mg                      |  |
| Uniformité de masse      | Mmin : 497.9 mg<br>Mmax : 511.6 mg       | 480 mg/cp à 534 mg/cp                    |  |
| Friabilité               | 0.26%                                    | ≤ 1%                                     |  |
| Temps de désagrégation   | 6.14 min                                 | ≤ 15 min                                 |  |
| Test de dissolution      | 91.84 %                                  | ≥ 70 %                                   |  |
| Dosage par HPLC          |  |  |  |
| • Sulfaméthoxazole 400mg | 404mg/cp, 101.00%                        | 370mg/cp à 430mg/cp                      |  |
| • Triméthoprime 80mg     | 79.41mg/cp, 99.26%                       | 74mg/cp à 86mg/cp<br>92.5% à 107.5%      |  |

Les résultats de la caractérisation du produit fini PRIMAZOL® montrent qu'il s'agit de comprimés blancs, semi bombés et lisses, identiques aux critères prescrits par le dossier pharmaceutique interne de SAIDAL (**Monographie interne de SAIDAL**). Cette qualité satisfaisante est le résultat de la conformité des matières premières qui entrent dans la composition de cet antibiotique.

Le poids moyen est 503.5 mg, ce résultat correspond bien aux études précédentes dans lesquelles **Benmaadi (2016)** a trouvé 503,5 mg et **Harrache et Atmane (2017)** ont trouvé 502,41 mg. Cette valeur est située dans l'intervalle des normes exigées par le dossier pharmaceutique interne (484.5 mg à 505.5 mg) et de ce fait déclaré conforme.

Les résultats de l'uniformité de masse des comprimés analysés se trouvent dans les intervalles établies par le dossier pharmaceutique interne, ce qui confirme la bonne homogénéité des mélanges et la bonne répartition de ces derniers en unités de prises au cours de fabrication.

Le temps de désagrégation est de 6 min et 14 sec. Il est inférieur aux 15 min, et qui représente le temps fixé décrit au niveau du dossier pharmaceutique interne, ce qui signifie que ces comprimés ont un bon délitement au niveau gastrique.

Les comprimés ont un taux de friabilité très faible (0.26%), ce qui rassure la résistance en cas d'un choc mécanique lors de conditionnement, transport et distribution. Donc, ils sont conformes aux normes du dossier pharmaceutique interne. Cependant les comprimés testés par **Benmaadi (2016)** sont légèrement moins friables avec un taux de friabilité égal à 0.12%.

Le résultat du test de dissolution montre que le taux de dissolution de PRIMAZOL® (91.84%) est supérieur à 70%. Donc le produit est conforme aux normes du dossier pharmaceutique interne. Un résultat supérieur a été observé par **Benmaadi (2016)** avec un taux de dissolution égal à 97.43%.

Le sulfaméthoxazole et le triméthoprime ont été dosés par HPLC dans le produit fini PRIMAZOL® afin de mettre en évidence leur présence et de déterminer leurs concentrations, en comparaison avec les normes en vigueur. Les résultats obtenus révèlent qu'ils ont été détectés dans le produit fini à des concentrations qui se situent dans l'intervalle de concentration en principe actif indiqué par le dossier pharmaceutique interne. Les résultats de **Benmaadi (2016)** (390.53mg/Cp pour sulfaméthoxazole et 77.16mg/Cp pour triméthoprime) mènent à une conclusion similaire.

L'ensemble des analyses physico-chimiques permet de mettre en évidence que le produit fini PRIMAZOL® est d'une qualité physico-chimique satisfaisante et acceptable. Les résultats du contrôle physico-chimique du produit fini PRIMAZOL® étaient conformes aux

normes exigées par le dossier pharmaceutique interne, ce qui indique la bonne maîtrise et le respect d'une part de toutes les étapes de fabrication des comprimés et d'autre part, le respect des règles de bonnes pratiques de fabrication. De ce fait, nous pouvons ainsi attester que le produit est de bonne qualité physico-chimique et qu'il est déclaré par conséquence conforme.

### III.2. Contrôle microbiologique du produit fini (PRIMAZOL®):

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous sont des résultats attendus, ils ont été observés par **Taibi (2017)** suite à un contrôle microbiologique du produit fini PRIMAZOL® effectué selon la méthodologie recommandée par la **PE 2014**.

**Tableau VIII** : Résultats attendus du contrôle microbiologique du produit fini PRIMAZOL®

| Tests  | Lecture | Normes PE 2017          | Conformité   |
|--|---------|-------------------------|--|
| <b>Dénombrement des germes aérobies viables totaux (UFC/g) :</b>                                       |         |                         | Conformes aux spécifications décrites dans la PE 2017. |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>● Bactéries</li> <li>● Levures - moisissures</li> </ul>         | 0<br>0  | <10 <sup>3</sup> UFC/ml |  |
| <b>Titrage des :</b>   |         |                         |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>● Entérobactéries</li> <li>● <i>Escherichia coli</i></li> </ul> | 0<br>0  | <200 UFC/ml             |  |
| <b>Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i></b>  | Absence | Absence                 |  |
| <b>Recherche des <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>   | Absence | Absence                 |  |
| <b>Recherche des Salmonelles</b>   | Absence | Absence                 |  |

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

Les résultats des germes aérobies viables totaux et des micro-organismes spécifiques (Entérobactéries et *Escherichia coli*) dans le tableau sont acceptables par rapport aux normes exigées par la PE 2017. Pour la recherche des germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et Salmonelles), les résultats attendus indiquent une absence totale de ces germes dans le produit fini, et sont ainsi conformes à la norme. Les résultats de **Benmaadi (2016)** sont identiques (absence pour tous les germes recherchés).

Le produit fini est donc conforme et présente une très bonne qualité microbiologique et répond aux normes exigées par la **PE 2017**. Ceci est probablement dû à :

- l'origine synthétique des matières premières qui est défavorable au développement microbiologique,
- l'état hygiénique des équipements utilisés,
- l'emballage étanche au développement des micro-organismes,
- le personnel manipulateur qui applique les bonnes règles d'hygiène et le respect des bonnes méthodes de fabrication évitant toute contamination microbienne en cours de fabrication.

**III.3. Contrôle toxicologique du produit fini (PRIMAZOL®) :**

Les résultats présentés dans le tableau **IX** sont des résultats attendus, ils ont été observés par **Taibi (2017)** suite à un contrôle toxicologique du produit fini PRIMAZOL® effectué selon la méthodologie recommandée par la **PE 2014**.

**Tableau IX :** Résultats attendus du contrôle toxicologique du produit fini PRIMAZOL®

| Temps de lecture | Test de mortalité sur 5 souris |    |    |    |    | Normes PE 2017   | Conformité   |
|------------------|--------------------------------|----|----|----|----|------------------|--|
|                  | 1                              | 2  | 3  | 4  | 5  |                  |  |
| Après 30 min     | 00                             | 00 | 00 | 00 | 00 | aucune mortalité | Conformes aux spécifications décrites dans la PE 2017. |
| Après 1h         | 00                             | 00 | 00 | 00 | 00 | aucune mortalité |  |
| Après 24h        | 00                             | 00 | 00 | 00 | 00 | aucune mortalité |  |
| Après 48h        | 00                             | 00 | 00 | 00 | 00 | aucune mortalité |  |

**00** : pas de mortalité.

- Les deux premières lectures après 30min et 1h faite sur les 5 souris n'ont révélé aucunes anomalies ainsi que de mortalité à la dose administrée 1200 mg/Kg.
- Les deux lectures faites après 24h et 48h n'ont montré, à son tour, aucune anomalie ni mortalité sur les 5 souris.

Ces résultats attendus concordent avec les résultats de **Benmaadi (2016)** n'ayant constaté aucune mortalité parmi les 5 souris.

Traditionnellement, la base de la détermination de la toxicité a été l'administration du composé, *in vivo*, à une ou plusieurs espèces animales de laboratoire, suivie d'un examen des signes cliniques de toxicité et/ou de mortalité (**Hodgson, 2010**).

Cette absence totale d'anomalies ou de mortalité démontre l'innocuité parfaite de PRIMAZOL®. Ces résultats concordent avec les normes présentées par le PE 2017.

## Conclusion

Depuis sa fabrication, sa présentation, sa commercialisation et jusqu'à son utilisation, le médicament est un produit très sensible et très fragile. Des mesures préventives s'avèrent nécessaires pour garantir la sécurité d'emploi du médicament.

Notre travail à l'unité BIOTIC de Gué de Constantine du groupe SAIDAL, nous a permis de faire une mise au point sur les techniques indispensables dans le contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique, et toxicologique des médicaments, en particulier, un médicament non obligatoirement stérile PRIMAZOL® 400mg/80mg, selon les méthodes d'analyse de la pharmacopée européenne et le dossier pharmaceutique interne.

La bonne qualité physicochimique des principes actifs et du produit fini, qui se traduit par les résultats obtenus conformément aux normes de la pharmacopée européenne 2017 indique la bonne qualité des matières premières, alors que celle du produit fini prouve la maîtrise des processus de fabrication.

Concernant la bonne qualité microbiologique du produit fini, elle est traduite par l'absence des bactéries et germes viables ainsi que les bactéries pathogènes, ce qui représente les bonnes conditions d'hygiène.

Le contrôle toxicologique n'a prouvé aucune éventuelle toxicité due aux substances ajoutées accidentellement pendant la fabrication, elle est traduite par l'absence des mortalités au niveau des souris étudiées pour une période de 48 heures.

Tous les résultats des contrôles effectués permettent de conclure que le produit peut être délivré aux patients sans aucun risque.

## *Références bibliographiques*

- **A**

**Aiache, J.M., Beyssac, E., Cardot, J.M., Hoffart, V., Renoux, R. (2008).** Initiation à la connaissance du médicament (5<sup>ème</sup> éd). Elsevier Masson. Pp : 12.

**Allo, O., Blanc, P. et Dalmasso, M.A. (2005).** Pharmacie Galénique BP (2<sup>ème</sup> Ed) Groupe liaisons SA. Pp : 127.

**Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie : ANOFEL. (2014).** Pneumocystose. Université médicale virtuelle francophone.

**Audenet, F., Bruyère, F. (2016).** Infections sexuellement transmissibles. Association Française d'Urologie.

**Ayadim, M., Habib, J.L. (2013).** Chimie générale. Presses universitaires de Louvain. Pp : 65.

- **B**

**Battraud, P.M. (2017).** La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité?. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lille 2.

**Benmaadi, A. (2016).** Contrôle de qualité et microbiologique d'une forme sèche de comprimés. Mémoire de Master en biotechnologie microbienne. Université Abderrahmane Mira- Béjaia.

**Bertram, G.K. (2000).** Pharmacologie fondamentale et clinique, (7<sup>iem</sup> Ed). Piccin Nuova Libreria S.P.A. Pp : 787.

**Boiret, M., Chauchard, F. (2016).** Use of near-infrared spectroscopy and multipoint measurements for quality control of pharmaceutical drug products. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(3), 683–691.

**Bonnet P.A. (2007).** Contrôle de qualité des médicaments. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Saint-Denis, France.

**Broggi, E., Bruyère, F. (2012).** Prise en charge des prostatites aiguës. *EMC-Urologie* ;5(4) :1-6 [Article 18-520-A-10].

- **C**

**Codastefano Rangel, J.P. (2016).** Fosfomycine pour le traitement de l'infection urinaire simple: revue systématique de la littérature et méta-analyse. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine. Université de Picardie Jules Verne-UFR de médecine d'Amiens.

**Cohen, Y., Jacquot, C. (2008).** Pharmacologie, (6<sup>iem</sup> éd). Elsevier Masson SAS. Pp: 346.

**Colomb, F. (2010).** HPLC principe et appareillage. France : académie de Rouen.

- **D**

**Delizy, M.J. (2004).** Les sulfamides potentialisés: revue bibliographique des utilisations chez les carnivores domestiques et les nouveaux animaux de compagnie. Thèse pour l'obtention de doctorat vétérinaire. La faculté de médecine de Créteil: Université Paris. France.

**Dictionnaire CRD. (2005).** Dictionnaire des médicaments SAIDAL, Science et santé, centre de recherche et de développement. Np: 690.pp: 552-562.

**Dossier pharmaceutique. (2010).** Groupe SAIDAL, fiche pharmaceutique.

**Duroudier, J.P. (2017).** Mécanique des solides divisés. ISTE Editions Ltd. Pp : 177.

- **F**

**Florence, H., Brigitte, C., Alain, H., Lionel, R., Serge, C. (2008).** Guide du préparateur en pharmacie. Edition Elsevier Masson SAS. Pp :839.

- **G**

**Gavrilovie, M., Mognot, M.J., Schwartz, H., Gavrilovie, C., walach, J. (1996).**

Manipulation d'analyse biochimique (3<sup>ème</sup>éd).Doin éditeur Genève.Np: 453 pp: 59-354.

**Gazengel, J.M.,Orecchioni, A.M. (2013).** Le préparateur en pharmacie, Guide théorique et pratique (2<sup>ème</sup> éd). Pp : 334.

- **H**

**Harrache, Z., Atmane, G. (2017).** Suivi de fabrication et étude comparative en contrôle qualité des comprimés d'un générique et d'un princeps de Sulfaméthoxazole/Triméthoprim 400mg/80mg. Mémoire de Master en sciences et génie pharmaceutique. Université Akli Mohand Oulhadj- Bouira.

**Hodgson, E. (2010).** A Textbook of modern toxicology. 4ème édition. John Wiley & Sons Inc., Np 648, pp 415.

**Hulse J.H. (2008).** Développement durable, un avenir incertain. Les presses de l'Université Laval, p:379.

- **J**

**Jacques, Q. (2007).** Dictionnaire médical de poche (2<sup>ème</sup> éd). Elsevier Masson, paris. Pp : 36.

- **K**

**Koissi, J.F. (2008).** Contrôle de qualité des comprimés non enrobés cas d'un générique et d'un princeps de doxycycline. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de médecine et de pharmacie. Université Mohammed V-Rabat.

- **L**

**Lavigne, J.P. (2007).** Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie. Faculté de Médecines Montpellier-Nîmes.

**Le hir, A., chaumeil, J.C., Brossard, D. (2009).** Pharmacie galénique, bonnes pratiques de fabrication des médicaments (9<sup>ème</sup> éd.). Elsevier Masson SAS. Np :382, Pp:2-10-36.

**Lehmann, A., Hofsäss, M. Dressman, J. (2018).** Differences in drug quality between South Africa and Germany. Journal of Pharmacy and Pharmacology, [online] 70(10), p.1301–1314.

**Lehmann, A., Katerere, D.R. Dressman, J. (2018).** Drug Quality in South Africa: A Field Test. Journal of Pharmaceutical Sciences, [online] 107(10), p.2720–2730.

**Lekhal, A.A., Assad, F. (2012).** Contrôle et sécurité d'un médicament générique RENIPRIL®2,5mg et de son princeps TRIATEC® 2,5mg. Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie. Faculté des Sciences Agronomiques –Vétérinaires et biologiques. Université Saad Dahlab. Blida.

**Léonard, L., Ben Amar, M. (2002).** Les Psychotropes : pharmacologie et toxicomanie. Les Presses de L'Université de Montréal. Np : 881.

**Lombared, A. (2019).** Modélisation pharmacocinétique-pharmacodynamique et nouvelles stratégies thérapeutiques en immuno-oncologie. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Faculté de pharmacie Aix-Marseille Université.

**Lozniewskiet, A., Raband, C. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiche conseil pour la prévention du risqué infectieux. Centre de Coordination de lutte contre les infections Nosocomiales-Sud Est.

- **M**

**Marc, T., Gerard, W. et Denis, L. (2001).** Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux (4ème Edition). 426p.

**Mendel, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R. (2009).** Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. (6<sup>iem</sup>ed), Elsevier, Churchill Livingstone editeurs, USA.

**Monographie interne de SAIDAL. (2020).** SAIDAL, Algérie.

- **Q**

**Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2000).** Guide pour l'élaboration de mesures visant à éliminer les médicaments contrefaits, Genève.

**Organisation mondiale de la santé (OMS). (2017).** Dans les pays en développement, 1 médicament sur 10 est de qualité inférieure ou falsifié. [online] Who.int. Available at: <https://www.who.int/fr/news-room/detail/28-11-2017-1-in-10-medical-products-in-developing-countries-is-substandard-or-falsified> [Accessed 24 Jul. 2020].

**Orphee, Z. (2008).** Contrôle analytique des médicaments à base d'albendazole et de Mébendazole vendus en République de Guinée cas de la ville de Conakry. Thèse de doctorat en pharmacie .Université de Ghinia. Pp : 42.

- **P**

**Pharmacopée Européenne. (2008).** (6<sup>ème</sup> éd) Conseil de l'Europe.

**Pharmacopée Européenne. (2014).** (8<sup>ème</sup> éd) Conseil de l'Europe.

**Pharmacopée Européenne. (2017).** (10<sup>ème</sup> éd) Conseil de l'Europe.

**Pradeau, D. (1992).** Analyse pratique du médicament, édition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

- **R**

**Ragued, H., Guerch, A. (2019).** Contrôle qualité physico-chimique des formes intermédiaires des comprimés Valsartan/Hydrochlorothiazide 80/12.5mg au cours de la validation du procédé de fabrication. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de médecine. Université de Saad Dahleb Blida. Pp : 11.

**Roche, Y., Niel, P. (2006).** Analyses en microbiologie: Produits non stériles. Techniques de l'ingénieur Analyse et caractérisation.

- **S**

**Scriban R. (1999).** Biotechnologie Tec & Doc. 5<sup>ème</sup> Edition, Paris, pp : 927.

**Smaoui, S. (2010).** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolé et identifiés. Thèse de doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France. Pp : 251.

**Stitou, M. (2019).** Proposition d'un système de surveillance épidémiologique de la fièvre typhoïde au Maroc. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine. Université Mohammed V de Rabat-Maroc.

**Stora, D. (2013).** Pharmacologie et thérapeutique (2<sup>ème</sup> ed). Edition Lamarre.

- **T**

**Taibi, A. (2017).** Contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique, toxicologique et la sécurité d'un antibiotique PRIMAZOL (Sulfaméthoxazole400mg et Trimathoprime80mg), Mémoire de Master en génie biologie, Université Saad Dahlab, Blida, Algérie. Pp :46-50.

**Talbert, M., Willoquet, G., Gervais, R. (2009).** le guide pharmaco clinique. Wolterskluwer France. Pp : 26.

- **V**

**Vandamme, T.F., Rival, Y., Pabst, J.Y., Heitz, C. (2010).** Initiation à la connaissance du médicament. Édition lavoisier. Pp : 22.

- **W**

**Wehrlé, P. (2007).** Pharmacie galénique : formation et technologie pharmaceutique (1<sup>ère</sup> éd). Maloine, France. Pp : 96.

- **Y**

**Yala, D., Merad, A.S., Mohamed, D., Ouar Korich, M.N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Medcine de Maghreb. N°91 :91 :13-14.

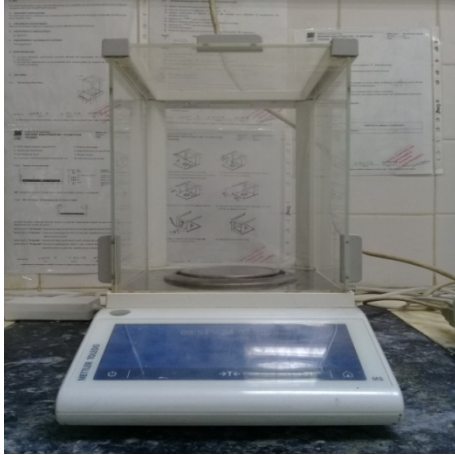
- **Z**

**Zeghilet N. (2009).** Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans la viande blanche par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en médecine vétérinaire. Université Mentouri de Constantine. 181 pages.

## Annexe 01. Matériel non biologique

### 1) Matériel utilisé pour le contrôle physico-chimique

- **Appareils**



*Balance de précision*



*Dessiccateur*



*Etuve*



*Four à moufle (Nabertherm)*



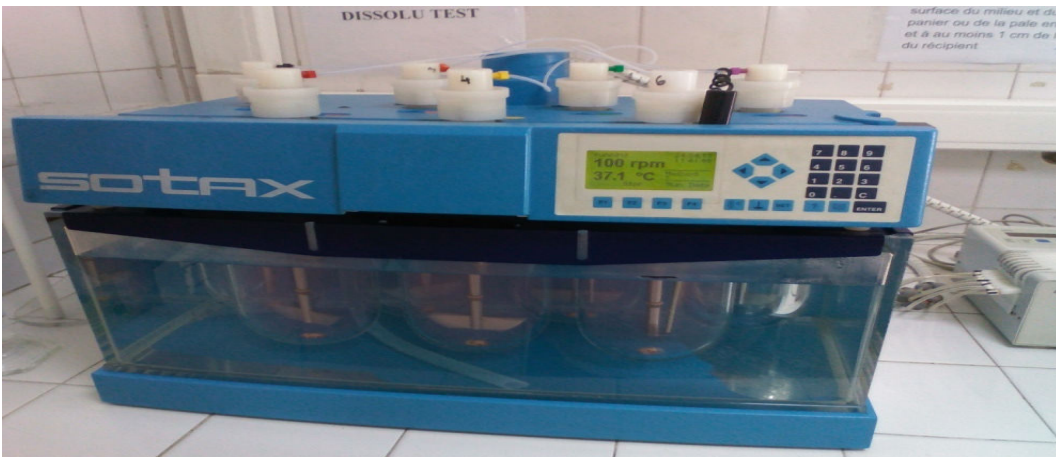
*Appareil de test de désagrégation (ERWEKA)*



*Appareil de point de fusion (Stuart)*



*Appareil de chromatographie liquide à haute performance HPLC*



*Dissolu-test (ERWEKA)*

## 2) Matériel et réactifs utilisés pour le contrôle physico-chimique

| Appareils   | Réactifs  | Verrerie  |
|---|---|---|
| -Friabilimètre ( <b>ERWEKA</b> )<br>-Minéralisateur<br>-pH-mètre<br>-Potentiomètre<br>-Spectrophotomètre IR<br><b>(PerkinElmer)</b><br>-Spectrophotomètre UV<br>-Vortex | -Acétone<br>-Acetonitrile<br>-Acide acétique à 1%<br>-Acide acétique anhydre R<br>-Acide chlorhydrique 0.1N<br>-Acide chlorhydrique à 10g/l de HCl.<br>-Acide chlorhydrique dilué (HCl)<br>-Acide perchlorique<br>-Acide sulfurique<br>-Chlorure de méthylène R<br>-Eau R, Eau distillé<br>-Ethanol à 96%<br>-Hydroxyde de sodium dilué (NaOH)<br>-Méthanol R<br>-Triéthylamine | - Capsule<br>- Creuset<br>- Eprouvette en verre graduée<br>- Erlenmeyer<br>- Papier en aluminium<br>- Pipettes en verre graduées<br>- Poire<br>- Spatule en inox<br>- Tube capillaire<br>- Tubes à essais |

3) Appareillage et matériel utilisés pour le contrôle microbiologique

- Pipettes graduées stériles
- Tubes à essais
- Bec benzène
- Etuve à 25°C
- Etuve à 44°C.

4) Appareillage et réactifs utilisés dans le contrôle toxicologique

- Cages à contention pour souris
- Balance pour animaux
- Compresses
- NaCl à 0.9%
- Tween 80
- Seringue de 2ml
- Eau distillé.

5) Préparation des solutions pour le contrôle physico-chimique

| <b>Solutions</b>               | <b>Préparation</b>  |
|--------------------------------|---|
| <i>Solution primaire jaune</i> | Dissolvez 46 g de chlorure ferrique R dans 900 ml environ d'un mélange de 25 ml d'acide chlorhydrique R et de 975 ml d'eau R, puis complétez à 1000,0 ml avec le même mélange. Titrez et ajustez la solution à 45,0 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ par millilitre, par addition du même mélange acide. Conservez à l'abri de la lumière. |
| <i>Solution primaire rouge</i> | Dissolvez 60 g de chlorure de cobalt R dans 900 ml environ d'un mélange de 25 ml d'acide chlorhydrique R et de 975 ml d'eau R, puis complétez à 1000,0 ml avec le même mélange. Titrez et ajustez la solution à 59,5 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ par millilitre, par addition du même mélange acide.                                  |
| <i>Solution primaire bleue</i> | Dissolvez 63 g de sulfate de cuivre R dans 900 ml environ d'un mélange de 25 ml d'acide chlorhydrique R et de 975 ml d'eau R, puis complétez à 1000,0 ml avec le même mélange. Titrez et ajustez la solution à 62,4 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ par millilitre, par addition du même mélange acide.                                   |

## Annexe 02. Composition des milieux de cultures

### ➤ Milieu Sabouraud

|                              |               |
|------------------------------|---------------|
| Peptone de viande ou caséine | <b>10g</b>    |
| Glucose mono-hydraté         | <b>40g</b>    |
| Agar                         | <b>15g</b>    |
| Eau purifié                  | <b>1000ml</b> |
| <b>pH=5.6±0.2</b>            |               |

### ➤ Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja

|                                 |               |
|---------------------------------|---------------|
| Peptone pancréatique de caséine | <b>15.0g</b>  |
| Peptone papaïnique de soja      | <b>5.0g</b>   |
| Chlorure de sodium              | <b>5.0g</b>   |
| Agar                            | <b>15.0g</b>  |
| Eau distillée                   | <b>1000ml</b> |
| <b>pH=7.3±0.2</b>               |               |

### ➤ Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja

|                                 |               |
|---------------------------------|---------------|
| Peptone pancréatique de caséine | <b>17.0g</b>  |
| Peptone papaïnique de soja      | <b>3.0g</b>   |
| Chlorure de sodium              | <b>5.0g</b>   |
| Glocusemono-hydraté             | <b>2.5g</b>   |
| Phosphate di-potassique         | <b>2.5g</b>   |
| Eau distillée                   | <b>1000ml</b> |
| <b>pH=7.3±0.2</b>               |               |

➤ **Milieu gélosé de Mac Conkey**

|                                      |               |
|--------------------------------------|---------------|
| Hydrolysate pancréatique de gélatine | <b>17.0g</b>  |
| Peptones de viande et de caséine     | <b>3.0g</b>   |
| Lactose mono-hydraté                 | <b>10.0g</b>  |
| Chlorure de sodium                   | <b>5.0g</b>   |
| Sels biliaires                       | <b>1.5g</b>   |
| Gélose                               | <b>13.5g</b>  |
| Rouge neutre                         | <b>30.0mg</b> |
| Violet cristallisée                  | <b>1.0mg</b>  |
| Eau distillée                        | <b>1000ml</b> |
| <b>pH 7.1</b>                        |               |

➤ **Milieu gélose Cetrimide**

|                                    |               |
|------------------------------------|---------------|
| Peptone de gélatine                | <b>16.0g</b>  |
| Peptone de caséine                 | <b>10.0g</b>  |
| Bromure de tétradonium (cétrimide) | <b>0.2g</b>   |
| Acide nalidixique                  | <b>15.0mg</b> |
| Sulfate de potassium               | <b>10.0g</b>  |
| Chlorure de magnésium              | <b>1.4g</b>   |
| Agar                               | <b>10.0g</b>  |
| Eau distillée                      | <b>1000ml</b> |

➤ **Milieu peptone tamponné au chlorure de sodium**

|                                 |               |
|---------------------------------|---------------|
| Phosphate monopotassique        | <b>3.26g</b>  |
| Phosphate disodiquedihydraté    | <b>7.2g</b>   |
| Chlorure de sodium              | <b>4.3g</b>   |
| Peptone de viande ou de caséine | <b>2.0mg</b>  |
| Eau purifiée                    | <b>1000ml</b> |

➤ **Bouillon liquide lactosé**

|                                      |               |
|--------------------------------------|---------------|
| Extrait de viande de bœuf            | <b>3.00g</b>  |
| Hydrolysate pancréatique de gélatine | <b>5.0g</b>   |
| Lactose monohydrate                  | <b>5.0g</b>   |
| Eau purifiée                         | <b>1000ml</b> |

➤ **Milieu d'enrichissements pour les entérobactéries Mossel**

|                                      |               |
|--------------------------------------|---------------|
| Hydrolysate pancréatique de gélatine | <b>10.0g</b>  |
| Glucose monohydrate                  | <b>5.0g</b>   |
| Bile de bœuf déshydraté              | <b>20.0g</b>  |
| Phosphate di sodique di hydraté      | <b>8.0g</b>   |
| Phosphate mono potassique            | <b>2.0g</b>   |
| Vert brillant                        | <b>0.015g</b> |
| Eau purifié                          | <b>1000ml</b> |
| <b>pH=7.2±0.2</b>                    |               |

➤ **Bouillon au tétrathionate-bile-vert-brillant (TBG)**

|                            |               |
|----------------------------|---------------|
| Peptone                    | <b>8.6g</b>   |
| Bile de bœuf séché         | <b>8.0g</b>   |
| Chlorure de sodium         | <b>6.4g</b>   |
| Carbonate de calcium       | <b>20g</b>    |
| Tétrathionate de potassium | <b>20g</b>    |
| Vert brillant              | <b>0.07g</b>  |
| Eau distillé               | <b>1000ml</b> |
| <b>pH=7.0±0.2</b>          |               |

### Annexe 03.

➤ **Résultats pour le contrôle physico-chimique**

✓ **Matières premières**

• **Sulfaméthoxazole 400mg**

1. Calcul de perte à la dessiccation

$$Pd\% = \frac{(Pv + Pe) - Pf}{Pe} \times 100 = \frac{(92.3729 + 1.0096) - 93.3800}{1.0096} \times 100 = \mathbf{0.2476\%}$$

2. Calcul des cendres sulfuriques

$$Cs\% = \frac{(Pf - Pv)}{Pe} \times 100 = \frac{(19.6971 - 19.6968)}{1.0069} \times 100 = \mathbf{0.0297\%}$$

• **Triméthoprim 80mg**

1. Calcul de perte à la dessiccation

$$Pd\% = \frac{(Pv + Pe) - Pf}{Pe} \times 100 = \frac{(31.5035 + 1.0011) - 32.5032}{1.0011} \times 100 = \mathbf{0.1398\%}$$

2. Calcul des cendres sulfuriques

$$Cs\% = \frac{(Pf - Pv)}{Pe} \times 100 = \frac{(19.6873 - 19.6866)}{1.0028} \times 100 = \mathbf{0.0698\%}$$

3. Calcul de dosage de Triméthoprim 80mg

$$Dg\% = \frac{V \times CT \times M}{Pe \times (100 - Pd)} \times 100 = \frac{8.576 \times 29.03 \times 0.1}{0.2502 \times (100 - 0.14)} \times 100 = \mathbf{99.64\%}$$

✓ **Produit fini**

1. Calcul de poids moyen

$$PM = \frac{P1 \pm P2 + \dots + P10}{N}$$
$$= \frac{489.2 + 496.5 + 495.8 + 503.6 + 494.1 + 505.6 + 507.5 + 513.4 + 503.5 + 509.3}{10}$$
$$= \mathbf{503.3mg}$$

## 2. Calcul de l'uniformité de masse

$$MM = \frac{P1 + P2 + \dots + P20}{N} = 507.79mg$$

$$T1 = \frac{MM \times 5}{100} = \frac{507.79 \times 5}{100} = 25.38mg$$

$$T2 = \frac{MM \times 10}{100} = \frac{507.79 \times 10}{100} = 50.77mg$$

❖ Poids des 20Cp en mg

|       |       |       |       |        |       |       |       |       |       |
|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 507.3 | 510.1 | 512.8 | 510.9 | 506.11 | 506.3 | 510.2 | 504.9 | 511.6 | 509.2 |
| 510.3 | 504.7 | 510.8 | 505.9 | 502.0  | 510.2 | 502.9 | 514.9 | 497.9 | 506.5 |

## 3. Calcul du dosage de produit fini

- Calcul du dosage de Sulfaméthoxazole 400mg dans le produit fini

$$T = \frac{Se \times Pt \times MM}{St \times P} \times Te = \frac{4288230 \times 81.3 \times 507.4}{4386980 \times 100.3} \times 1.005 = 404.03mg/cp$$

- Calcul du dosage de Triméthoprime 80mg dans le produit fini

$$T = \frac{Se \times Pt \times MM}{St \times P} \times Te = \frac{308947 \times 17.6 \times 507.4}{346565 \times 100.3} \times 1.006 = 79.84mg/cp$$

## 4. Résultats du test de dissolution

$$X = \frac{\text{Surface SMX de l'essai}}{\text{Surface SMX de témoin}} \times \frac{Pet}{50} \times \frac{1}{10} \times \frac{900}{Pec} \times PM$$

$$Y = \frac{\text{Surface TMP de l'essai}}{\text{surface TMP de témoin}} \times \frac{Pet}{50} \times \frac{1}{10} \times \frac{900}{Pec} \times PM$$

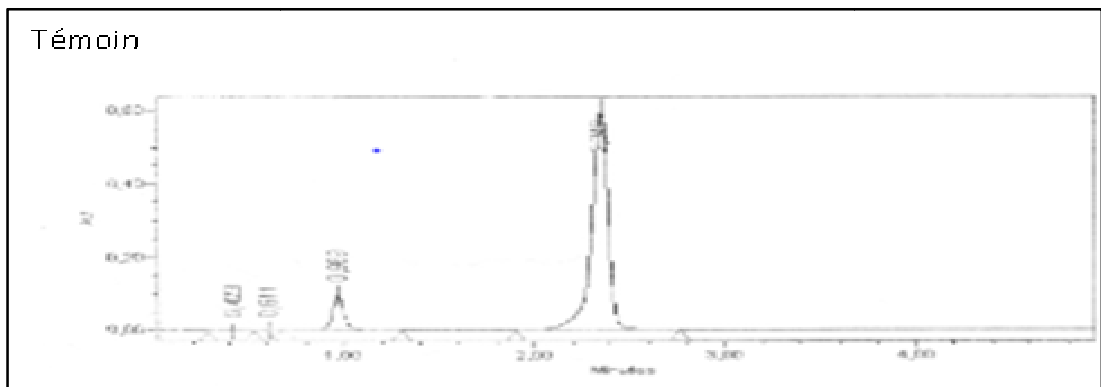
PM=503.3mg, Pet Sulfaméthoxazole= 81.3mg, Pet Triméthoprime= 17.6mg.

$$TD\% = \frac{X + Y}{480} \times 100$$

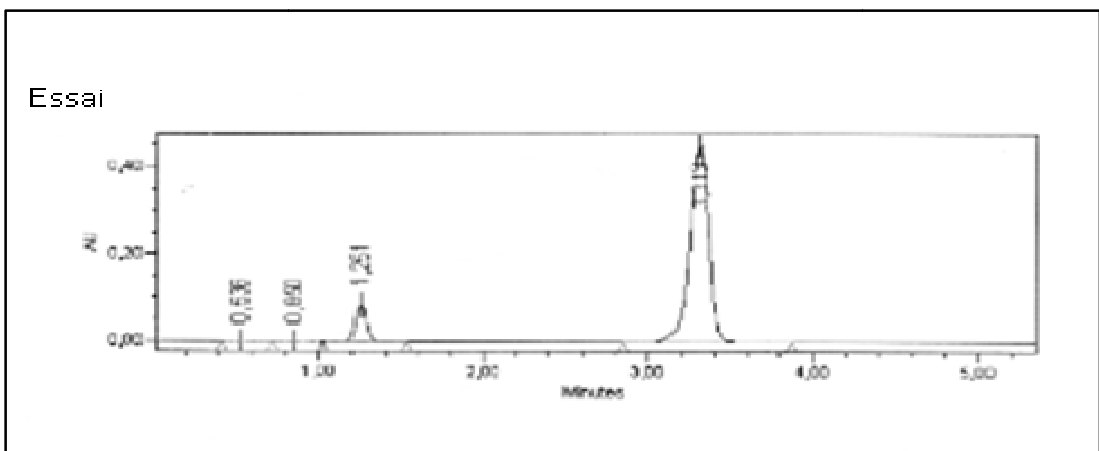
**\* Calcul de TD %**

| Vases  | Se<br>Sulfaméthoxazole | Se<br>Triméthoprime | X mg   | Y mg  | TD %  |
|--------|------------------------|---------------------|--------|-------|-------|
| Témoin | 4652542                | 348821              | /      | /     | /     |
| Vase 1 | 12049599               | 874111              | 381.67 | 79.73 | 96.12 |
| Vase 2 | 11387534               | 851661              | 360.70 | 77.69 | 91.33 |
| Vase 3 | 11279150               | 845219              | 357.26 | 77.10 | 90.49 |
| Vase 4 | 11923329               | 867077              | 377.67 | 79.09 | 95.15 |
| Vase 5 | 11039199               | 822274              | 349.66 | 75.01 | 88.47 |
| Vase 6 | 11220847               | 813117              | 355.42 | 74.17 | 89.47 |

✓ **Résultats du dosage du produit fini par HPLC (les chromatogrammes)**

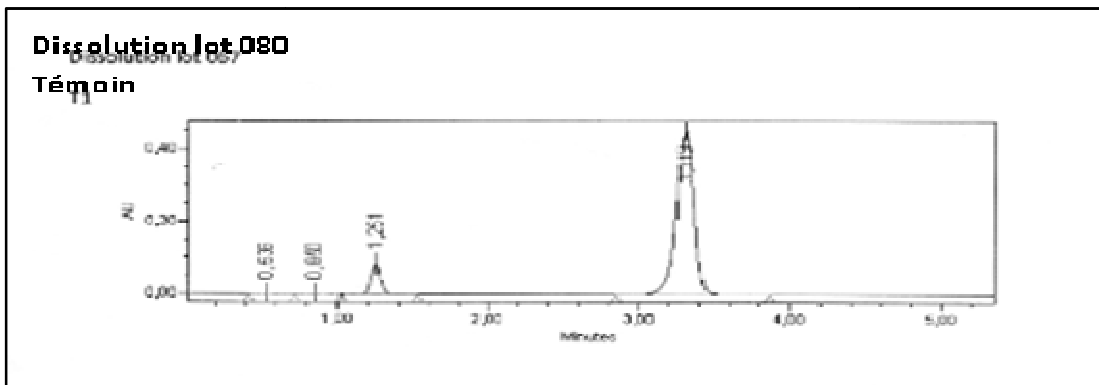


**Figure 10 :** Chromatogramme représentant le dosage de «PRIMAZOL® 400mg /80mg» dans la solution témoin (Taibi, 2017)

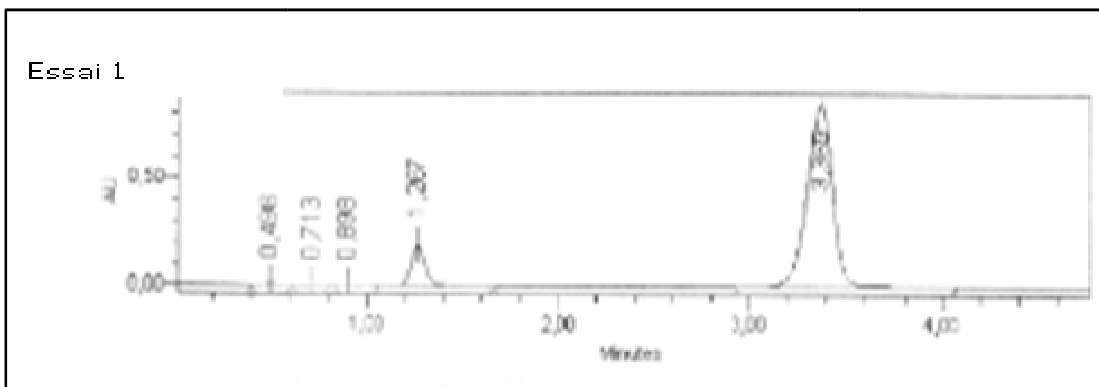


**Figure 11 :** Chromatogramme représentant le dosage du produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » (Taibi, 2017)

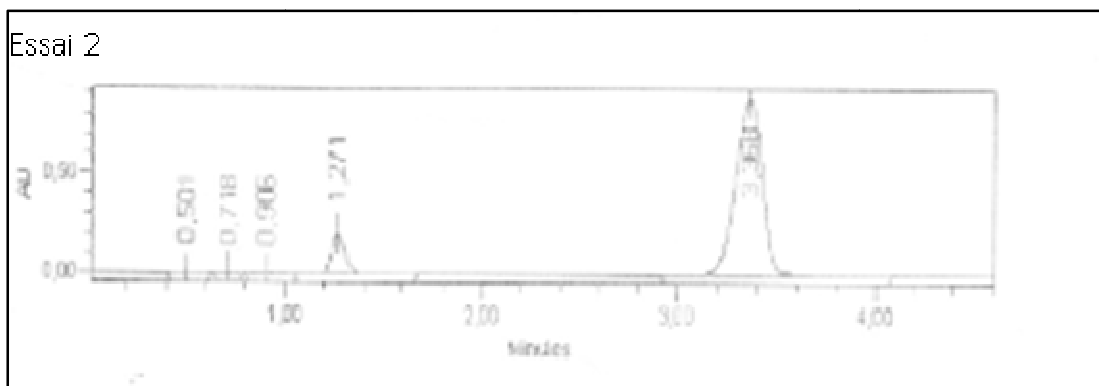
✓ Résultats du test de dissolution par HPLC (les chromatogrammes)



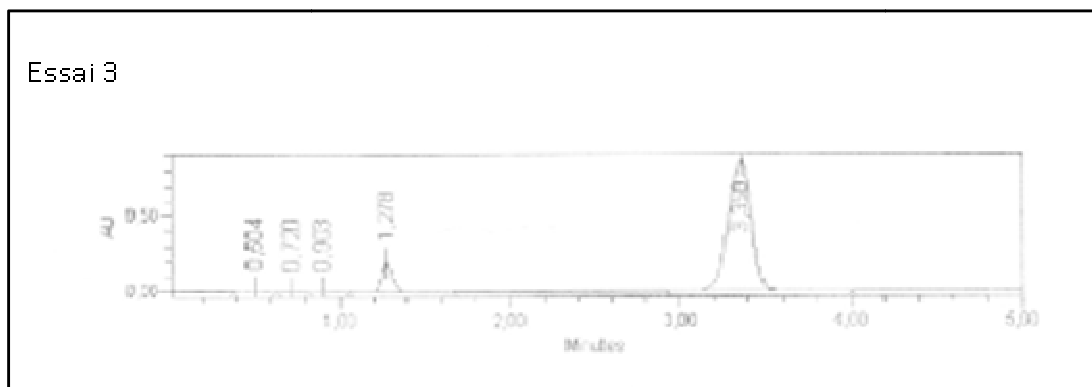
**Figure 12 :** Chromatogramme représentant le dosage de «PRIMAZOL® 400mg /80mg » dans la solution témoin (Taïbi, 2017)



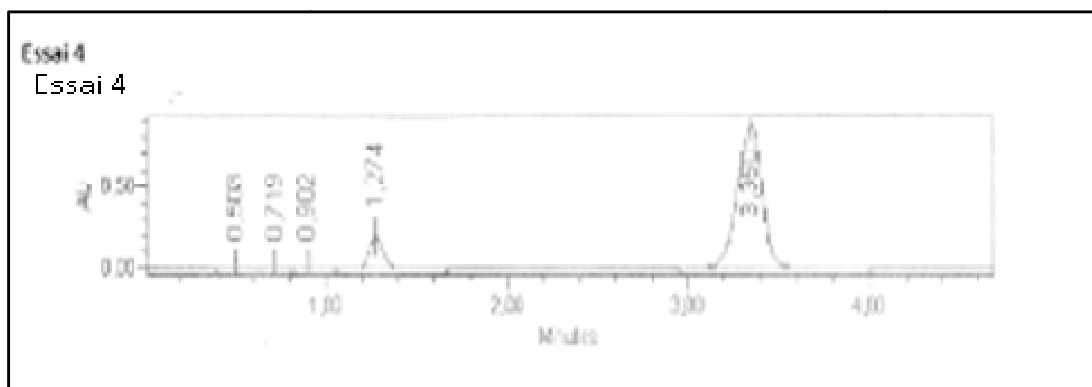
**Figure 13 :** Chromatogramme représentant le dosage du produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 1 (Taïbi, 2017)



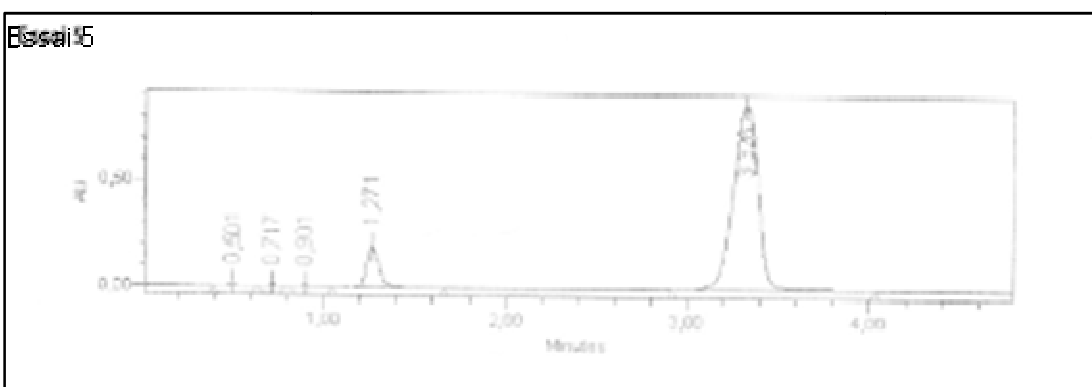
**Figure 14 :** Chromatogramme représentant le dosage du produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 2 (Taïbi, 2017)



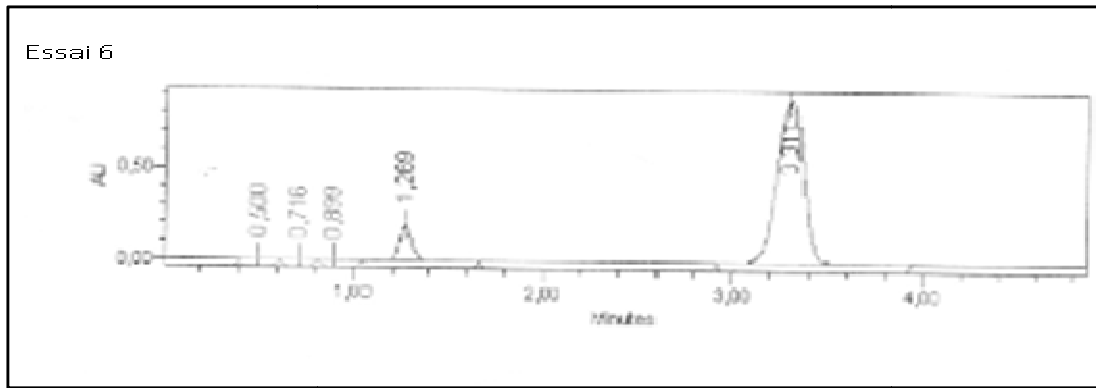
**Figure 15 :** Chromatogramme représentant le dosage du produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 3 (Taibi, 2017)



**Figure 16 :** Chromatogramme représentant le dosage du produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 4 (Taibi, 2017)



**Figure 17 :** Chromatogramme représentant le dosage du produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 5 (Taibi, 2017)



**Figure 18 :** Chromatogramme représentant le dosage du produit fini «PRIMAZOL® 400mg/80mg » pour Cp 6 (Taibi, 2017)