

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant
Filière : Sciences biologiques, Spécialité : Bioindustrie, Analyses et Contrôle.

Thème

**Contrôle qualité physico-chimique et microbiologique d'un
produit pharmaceutique non obligatoirement stérile sous
forme d'un gel KETOPROFENE LDM[®] 2.5%**

Par :

M^{elle} . GUERFA Rayen
M^{elle} . BOULAZREG Nesrine

Jury d'évaluation :

Président de jury : Mme. NEMMOUCHI
Encadreur : Mr. KACEM CHAOUCHE N.
Examineur (ice) : Mme GHORRI S.
Tutrice : M^{elle} ALLOUN W.
Maitre de stage : Mme BENCHAIB F.

Dr. UFM. Constantine 1.
Prof. UFM. Constantine 1.
Dr. UFM. Constantine 1.
Doctorante Lamy BAM UFM. Constantine 1.
Responsable contrôle qualité LDM.

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2019-2020

Remerciements

*Avant tout nous remercions **Allah** tout puissant de nous avoir donné la force,
le courage et la patience pour accomplir ce travail.*

*Ce projet de recherche est le fruit de la riche collaboration et du soutien infaillible
de nombreuses personnes auxquelles nous désirons
témoigner, à travers ces quelques lignes, notre humble gratitude.*

*Nos sincères remerciements vont particulièrement à notre encadreur le professeur
chef de département de la Biologie Appliquée **Prof. KACEM CHOUACHE Noredine.**
(Univ. Frères Mentouri Constantine 1) dont la compétence, l'expérience et la conscience
professionnelle ont permis l'accomplissement de ces deux années
de master dans les meilleures conditions.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans son aide,
on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel,
pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant
notre préparation de ce mémoire..*

*Et en deuxième lieu nous tenons à remercier notre tutrice **Melle ALLOUN Wiem**
qui nous a dirigé et guidé et nous a fait part de ses remarques pertinentes qui nous ont été
précieuses tout au long de l'élaboration de ce mémoire.*

*Et pour nous avoir voué toute son attention, gentillesse et sa permanente présence.
Ainsi, nous la remercions pour son soutien moral et sa grande compréhension, ce qui nous a
procuré la force et le courage d'aller au bout de ce projet.*

Que ce travail soit pour vous la preuve de la gratitude et du respect que nous vous portons.

*Nos remerciements vont également aux membres de jury
qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir évaluer ce mémoire.
Nous remercions le **Docteur NEMMOUCHI** pour nous avoir fait
l'honneur de présider et de juger ce travail.*

Docteur GHORRI S. outre le fait qu'elle ait accepté de participer en tant que membre du jury, nous la remercions sincèrement pour l'honneur qu'elle nous a fait en voulant examiner et évaluer ce mémoire.

*Nos remerciements vont pareillement à toute l'équipe du laboratoire de contrôle qualité LDM, et à leur tête **Mme BENCHAIB Ferial**, responsable contrôle qualité LDM, pour l'excellent accueil, sa disponibilité, ses conseils avisés et son aide durant toute la période du stage.*

Ce travail n'aurait probablement pas pu être atteint de telles dimensions sans sa contribution.

*A Monsieur, **MATMAT Walid**, analyste de contrôle physico-chimique. Ses conseils, son soutien, et sa confiance nous ont permis de mener ce travail à bien.*

Nous lui témoignons de notre profonde reconnaissance pour la spontanéité et la gentillesse avec laquelle il nous a guidé lors de la réalisation de la partie physico chimique.

*Nous souhaitons également adresser nos plus vifs remerciements à Madame **MERABET Amira**, et à Monsieur **AOUAG Seif Eddine** analystes de contrôle microbiologique pour nous avoir accompagné dans cette partie expérimentale.*

Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

*****Merci*****

À celles et à ceux qui nous ont aidés d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, on les remercie du fond du cœur.

Dédicace

*Avec une énorme joie,
je dédie ce modeste travail.*

*A la femme la plus courageuse, honorable, aimable,
à la plus belle bougie qui a éclairé ma vie depuis ma naissance,
à celle qui représente pour moi le symbole de la bonté par excellence
et la source de tendresse, ma très chère **maman** que j'aime.*

A l'homme de ma vie, à celui qui a toujours été présent pour moi.

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité.

Merci pour ton amour, ta générosité et ton soutien en toutes circonstances.

*Que ce modeste travail soit le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés depuis ma
naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

Puisse Allah le tout puissant vous préserve et vous accorde santé, longue vie et bonheur.

*A mon frère **RAFIK**, à son épouse **MERIEM** et leurs petites princesses **TASNIM** et **DARIN**, les
mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection
que je porte pour vous.*

*A mes anges gardiens que j'aime profondément **Mohamed lamine** et **Mohamed Islam**, pour leur
grand soutien et leur aide précieuse, qu'ils trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.*

*A mes grands-parents **MA TATA & BABA HAMOUDI**, aucune dédicace ne saurait exprimer
l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous*

*A toute ma famille **GHANEM & BOULAZREG***

*A mon fiancé **RAOUF**, tes sacrifices, ton soutien moral m'ont donné l'envie et le courage de
continuer jour après jour. Je te remercie de ne m'avoir jamais déçu. Et à ma belle-famille.*

*A mon amie d'enfance et de tous les jours **RANDA**, à mes proches amies **AMINA**,
NARIMENE & NESRINE*

A tous mes professeurs

*Et sans oublier mon binôme et ma
meilleure amie **RAYEN**, ainsi
qu'à toute ta famille.*

Nesrine

Dédicace

*A ma mère, qui a œuvré pour ma réussite,
par son amour, son soutien, ses prières, tous les sacrifices
consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence
dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de
mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*A mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices
et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Merci pour les valeurs nobles,
l'éducation et le soutien permanent venus de toi.*

*Aucune dédicace ne peut exprimer ce que je ressens en pensant à tous les sacrifices
et l'affection, dont vous m'avez entouré.*

*Que ce travail puisse être le fruit de vos efforts et de vos sacrifices
Mais aussi le début de mes récompenses envers vous.*

*J'espère qu'un jour je pourrais vous rendre un peu de ce que vous avez fait pour nous.
Puisse Allah vous prêter santé et longue vie.*

*A mes chères sœurs que j'adore: **CHAIMA & NADA** pour leur grand soutien moral et leur
aide précieuse, qu'elles trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.*

*A toute ma famille **GUERFA** et **MESSIKH***

A tous mes professeurs

*A ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et les pires moments
de ma vie, à mes chères copines les plus fidèles:*

RANDA, NARIMANE, NESRINE.

*A tous mes Amis de la promotion « **Bioindustrie analyse et contrôle 2020** »,*

A tous mes collègues,

*A toi **NESRINE**, ma chère copine, mon binôme, ainsi qu'à toute ta famille.*

*A tous ceux que j'aime,
à tous ceux qui m'aiment,
je dédie ce modeste travail.*

Rayen

Résumé

Ce travail a pour objectif d'effectuer un contrôle physico-chimique et microbiologique sur le principe actif et les différents excipients du *KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel*. Ce contrôle qualité a pour but de garantir la conformité du médicament par rapport aux normes prescrites par la pharmacopée européenne 9^{ème} édition, au cours de sa fabrication et avant sa commercialisation. Le contrôle physico-chimique consiste à vérifier l'aspect et la solubilité du produit ainsi que son identification par des méthodes spectrales (spectroscopie IR et UV/VIS), sa quantification par HPLC, la perte à la dessiccation et les cendres sulfuriques...etc. Par ailleurs, le contrôle microbiologique réalisé sur le principe actif et le produit fini consiste à la recherche et le dénombrement des *DGAT*, *DMLT*, *Escherichia coli*, *salmonella*, *Entérobactéria*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats physico-chimiques montrent la pureté et certifient l'identité du principe actif et des excipients. Ainsi, les spectres IR révèlent la pureté du principe actif et confirment son identité. Et les chromatogrammes obtenus par HPLC confirment son bon dosage dans le produit. L'analyse microbiologique révèle l'absence totale de germes spécifiés dans le médicament. Le produit étudié est de bonne qualité pharmaceutique et répond aux critères de qualité, d'efficacité et de sécurité.

Mots clés : Contrôle qualité, *KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel*, contrôle physico-chimique, contrôle microbiologique, pharmacopée européenne 9^{ème} édition.

Abstract

This work aims to perform physico-chemical and microbiological control of the active ingredient and excipients of *KETOPROFENE LDM*[®] 2.5% Gel. The purpose of this control is to guarantee the conformity of the drug to the European pharmacopeia standards 9th edition, during its manufacturing and before commercialization. Physico-chemical control consists of examining the appearance and solubility of the product, as well as its identification by spectral methods (infrared and UV/Vis spectroscopy), its quantification via HPLC, loss on drying, sulfated ash...etc. However, the microbiological control that was made on the active ingredient and the finished product includes research and enumeration of total aerobic microbial count, total yeasts and molds count, *Escherichia coli*, *salmonella*, *Enterobacteria*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The physico-chemical results indicate the purity and assure the identity of the raw materials of which, IR spectra reveals the purity and identity of the active ingredients, and chromatograms obtained from HPLC affirm its correct dosage in the product. Microbiological assay reveals the total absence of specified microorganisms. The studied product is therefore considered to have a good pharmaceutical quality and meets the criteria of quality, efficiency, and safety.

Keywords: Quality control, *KETOPROFENE LDM*[®] 2.5% Gel, physico-chemical control, microbiological control, European pharmacopeia standards 9th edition.

ملخص

يهدف هذا العمل الى المراقبة الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية للمادة الفعالة ومختلف سواغات دواء كيتوبروفين LDM 2.5 % مرهم . تهدف هذه المراقبة لضمان مطابقة الدواء خلال تصنيعه وقبل تسويقه بالمقارنة مع المعايير المنصوص عليها في دستور الادوية الأوروبي الطبعة التاسعة. التحاليل الفيزيوكيميائية تتضمن مراقبة المظهر واختبار الذوبان للمنتج، بالإضافة الى تحديد هويته بطرق تحليلية (في المجال المرئي وال فوق بنفسجي ومجال الأشعة تحت الحمراء)، تقديره الكمي بواسطة HPLC الخ. اما بالنسبة للمراقبة الميكروبيولوجية المنجزة على المادة الفعالة والمنتج النهائي فتتضمن عد DGAT, DMLT البحث عن *salmonella, Entérobactéria, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* النتائج الفيزيوكيميائية تبين نقاء المواد الأولية المستعملة و هويتها. أطياف الأشعة تحت الحمراء تكشف نقاء المادة الفعالة، كما تؤكد الكروماتوغرامات الناتجة عن HPLC الجرعة الصحيحة في المنتج. يبين التحليل الميكروبيولوجي الغياب التام لجميع الجراثيم في الدواء. تدل هذه النتائج على ان المنتج المدروس ذو جودة دوائية جيدة و لديه تكافؤ علاجي مقارنة مع معايير الجودة والفعالية والسلامة.

الكلمات المفتاحية:

مراقبة الجودة، كيتوبروفين LDM 2.5 % مرهم، مراقبة فيزيوكيميائية، مراقبة ميكروبيولوجية، دستور الادوية الأوروبي الطبعة التاسعة.

Table des matières

Numéro	Intitulé	Page
LISTE DES ABREVIATIONS		
LISTE DES TABLEAUX		
LISTE DES FIGURES		
	Introduction générale	1
	Synthèse bibliographique	
Chapitre 1	Présentation de l'organisme d'accueil « LDM Groupe »	3
1.1-	Présentation de l'entreprise	3
1.2-	Différentes classes thérapeutiques fabriquées par LDM	4
1.3-	Différents compartiments de l'industrie pharmaceutique LDM	4
1.4-	Validation et audit	5
Chapitre 2	Anti-inflammatoires et présentation de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel	
2.1-	Inflammation et réaction inflammatoires	6
2.1.1-	Définition	6
2.1.2-	Types d'inflammation	6
2.2-	Anti-inflammatoires	6
2.2.1-	Définition d'un médicament	6
2.2.2-	Définition des anti-inflammatoires	7
2.2.3-	Types des anti-inflammatoires	7
2.2.3.1-	Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	7
2.2.3.2-	Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	7
2.2.4-	Mode d'action des anti-inflammatoires	7
2.3-	Présentation du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel	8
2.3.1-	Dénomination	8
2.3.2-	Définition et forme	9
2.3.3-	Composition	9
2.3.4-	Propriétés	10
2.3.5-	Mode d'action	10
2.3.6-	Critère de choix	11
2.4-	Processus de fabrication du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel	11
Chapitre 3	Paramètre à maîtriser dans l'industrie pharmaceutique	
3.1-	Qualité	13
3.2-	Assurance qualité	13
3.2.1-	Bonnes pratiques de laboratoire (BPL)	13
3.2.2-	Bonnes pratiques de fabrication des produits pharmaceutiques (BPF)	13
3.2.3-	Contrôle qualité	14
3.2.3.1-	Contrôle physico-chimique	14
3.2.3.2-	Contrôle microbiologique	15
3.3-	Référentiels	15
3.3.1-	Pharmacopée	15
3.3.2-	Autorisation de Mise sur le Marché (AMM)	16
3.3.3-	Monographie générale	16
3.3.4-	Approche des 5M (diagramme d'Ishikawa)	17
3.4-	Validation et qualification	17
	Etude expérimentale	
Chapitre 4	Matériel et méthode	
4.1-	Contrôle physico-chimique du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel	18

4.1.1-	Contrôle physico-chimique de la matière première	18
4.1.1.1-	Contrôle du principe actif	18
4.1.1.2-	Contrôle des excipients	23
4.1.1.2.1-	Carbomère 980	23
4.1.1.2.2-	Ethanol 96%	23
4.1.1.2.3-	méthylparaben	25
4.1.1.2.4-	propylparaben	26
4.1.1.2.5-	Trolamine	27
4.1.1.2.6-	Huile essentielle de lavande	29
4.1.2-	Contrôle physico-chimique du produit fini	30
4.1.2.1-	Aspect	30
4.1.2.2-	Identification par HPLC	30
4.1.2.3-	pH	30
4.1.2.4	Uniformité de masse	30
4.1.2.5-	Dosage	31
4.1.2.6-	Substance apparentées	32
4.2-	Contrôle microbiologique du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel	33
4.2.1-	Contrôle microbiologique de la matière première	33
4.2.1.1-	Contrôle du principe actif	33
4.2.1.1.1-	Préparation de la solution mère de l'échantillon	33
4.2.1.1.2-	Dénombrement microbien	33
A	Dénombrement des germes aérobies viables totaux (DGAT)	33
B	Dénombrement des levures et moisissures (DMLT)	34
4.2.1.1.3	Recherche des microorganismes spécifiés	34
A	<i>Escherichia coli</i>	34
B	<i>Salmonella</i>	35
4.2.2-	Contrôle microbiologique du produit fini	35
4.2.2.1-	Préparation de la solution mère de l'échantillon	35
4.2.2.2-	Recherche des microorganismes spécifiés	35
4.2.2.2.1-	<i>Entérobactéria</i> et autres bactéries Gram-négatives résistants aux sels biliaires	35
4.2.2.2.2-	<i>Staphylococcus aureus</i>	36
4.2.2.2.3-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
Chapitre 5	Résultat et discussion	
5.1-	Contrôle physico-chimique du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel	38
5.1.1-	Contrôle physico-chimique de la matière première	38
5.1.1.1-	Contrôle du principe actif	38
5.1.1.2-	Contrôle des excipients	39
5.1.2-	Contrôle physico-chimique du produit fini	43
5.1.2.1-	Aspect	43
5.1.2.2-	Identification par HPLC	43
5.1.2.3-	pH	44
5.1.2.4-	Contenu moyen / Uniformité de masse	44
5.1.2.5-	Dosage	44
5.1.2.6-	Substances apparentées	46
5.2-	Contrôle microbiologique de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel	48
5.2.1-	Contrôle microbiologique de la matière première	48
5.2.1.1-	Contrôle du principe actif	48
5.2.2-	Contrôle microbiologique du produit fini	49
5.2.2.1-	Dénombrement microbien	49

5.2.2.2-	Recherche des microorganismes spécifiés	49
Chapitre 6	Conclusion et perspectives	52
Références bibliographiques		53
Annexes		

Liste des abréviations

OMS : organisation mondiale de la santé

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

LDM : laboratoire de diagnostic magrébin

S. A.R.L : Société à Responsabilité Limitée

IPC : in process control

LNCPP : laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques

Ph. Eur : Pharmacopée Européenne.

AI : Anti Inflammatoires

AIS : Anti Inflammatoires Stéroïdiens.

AINS : Anti Inflammatoires Non Stéroïdiens

Cox : Cyclooxygénase

DCI : Dénomination commune internationale.

PA : Principe Actif.

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

BPL : Bonnes Pratiques de Laboratoire

BPD : Bonne Pratique de Distribution

ISO: International Organization for Standardization

SCR : Substance Chimique de Référence.

UFC : Unité Formant Colonie.

G : Gramme

Mg : Milligramme

M : Mole(s) par litre

m : mètre

Mm : Millimètre

Min : Minute

kPa : kilopascal

µl : microlitre.

µm : micromètre

Cm : centimètre

Nm : Nanomètre

T° : Température.

C° : Degrée Celsius

V/V : volume par volume

NaOH : Hydroxyde de sodium

CO₂ : dioxyde de Carbone

RSD : Relative Standard déviation

RT : Temps de rétention

LOD: Limit Of Detection

Cs : Cendres sulfuriques

UV/Vis : Ultraviolet /Visible.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

IR : Infra Rouge.

KF : Karl Fischer

CCM : chromatographie sur couche mince

R : pure

IA : indice d'acide

Dos : dosage du principe actif

Sub app : substances apparentées

DGAT : dénombrement des germes aérobies totaux.

DMLT : dénombrement des moisissures/levures total.

TSA : Tryptic Soy Agar, Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja

TSB : Tryptic Soy Broth, Milieu liquide aux peptones de caséine et du soja

TSE : Solution tampon peptonée au Chlorure de sodium

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

MCA : Milieu gélosé de MacConKey

MCB : Milieu liquide de MacConKey

XLD : Xylose-lysine-Désoxycholate.

SDA : Milieu Sabouraud Dextrosé Gélosé

EE - Mossel : milieu d'enrichissement pour les entérobactéries mossel

Liste des tableaux

Tableau	page
Tableau 1 Propriétés du KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	10
Tableau 2 Différents solvants utilisés pour tester la solubilité du principe actif	18
Tableau 3 Conditions chromatographiques pour substances apparentées	21
Tableau 4 Conditions chromatographiques pour CCM	29
Tableau 5 Conditions chromatographiques pour dosage	31
Tableau 6 Conditions chromatographiques pour substances apparentées	32
Tableau 7 Résultats du contrôle physico-chimique du PA	38
Tableau 8 Résultats du contrôle physico-chimique du carbomère 980	39
Tableau 9 Résultats de contrôle physico-chimique de l'éthanol 96%	39
Tableau 10 Résultats du contrôle physico-chimique de méthylparaben et propylparaben	40
Tableau 11 Résultats de contrôle physico-chimique de Triéthanolamine	40
Tableau 12 Résultats de contrôle physico-chimique de l'huile essentielle de lavande	41
Tableau 13 Résultats d'aspect de KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	43
Tableau 14 Identification de KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	44
Tableau 15 Résultats de pH de KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	44
Tableau 16 Résultats d'uniformité de masse de KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	44
Tableau 17 Résultats de dosage de KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	46
Tableau 18 Dosage des substances apparentées de KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	47
Tableau 19 Résultats du contrôle microbiologique de l'Acide benzoylphényl propanoïque	49

Liste des figures

Figure	page
Figure 1 Carte représentative du site géographique de l'industrie pharmaceutique LDM	3
Figure 2 Organigramme de répartition des espaces du LDM groupe	4
Figure 3 Mécanisme d'action des anti-inflammatoires	8
Figure 4 Emballage de KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	8
Figure 5 Représentation de la structure chimique du kétoprofène en 2D et en 3D	9
Figure 6 Schéma explicatif des étapes de fabrication de KETOPROFENE LDM [®] 2.5% Gel	12
Figure 7 Diagramme d'Ishikawa (règles des 5M)	17
Figure 8 IR de la marque PARKIELMER	19
Figure 9 Appareil HPLC	20
Figure 10 Four à moufle de la marque NUVE	22
Figure 11 UV/Vis de la marque SHIMADZU	25
Figure 12 KF de la marque HTDS METLER TOLEDO	28
Figure 13 Pic principal de la solution standard Dos avec le temps de rétention	45
Figure 14 Pic de la solution essai Dos du lot 9103 avec le temps de rétention	45
Figure 15 Pic de la solution essai Dos du lot 9104 avec le temps de rétention.....	45
Figure 16 Pic de la solution essai Dos du lot 9105 avec le temps de rétention	46
Figure 17 Pic principal de la solution standard Sub App avec	47
Figure 18 Pic de la solution essai Sub App du lot 9103 avec le temps de rétention	47
Figure 19 Pic de la solution essai Sub App du lot 9104 avec le temps de rétention	48
Figure 20 Pic de la solution essai Sub App du lot 9105 avec le temps de rétention	48
Figure 21 Culture sur le milieu TSA	49
Figure 22 Culture sur le milieu SDA	49
Figure 23 Culture sur le milieu VRBG	50
Figure 24 Culture sur le milieu MCA	50
Figure 25 Culture sur le milieu Chapman	50
Figure 26 Culture sur le milieu Cétrimide	50
Figure 27 Culture sur le milieu XLD	50

Introduction
générale

La santé est notre héritage, notre droit, c'est l'union totale et profonde entre l'âme, l'esprit et le corps et on doit la protéger (Bach, 1994).

Auparavant, l'homme s'est servi de plantes, de minéraux et de glandes animales pour constituer des remèdes. Ces substances naturelles sont devenues inefficaces avec l'apparition de maladies plus graves, ce qui a permis de développer de nouveaux médicaments d'origines, de formes et de spécificités différentes (Boucenane, 2018).

Les médicaments sont des substances pharmacologiques introduites dans un organisme vivant animal, ou appliquées sur cet organisme. Ils sont administrés dans le but de prévenir ou corriger les différentes fonctions anormales de l'organisme causées par une maladie (Boucenane, 2018), ou simplement pour atténuer certaines de ses manifestations, ou encore d'établir un diagnostic (Anonyme 1, 2020).

L'industrie pharmaceutique occupe à présent une place très importante dans le système de la santé, son activité et ses produits sont soumis aux lois, et aux règlements qui s'appliquent à leur mise au point, fabrication, et au contrôle qualité (Anonyme 5, 2019).

Les produits pharmaceutiques, indépendamment de leur forme galénique, leur processus de fabrication, leur formulation et leur voie d'administration, doivent respecter les exigences de base pour assurer la sécurité, l'efficacité, la stabilité et la qualité du produit (Larabi, 2019). L'absence d'un système de contrôle qualité dans une entreprise de production pharmaceutique peut conduire à la fabrication d'un produit défectueux, non conforme et potentiellement dangereux. Ainsi, les conséquences financières, commerciales et publicitaires seraient néfastes et porteraient préjudice à la prospérité et à l'image de l'entreprise.

Au cours des 60 dernières années, plus de 500 patients dans le monde sont décédés par intoxications dues à l'ingestion de médicaments défectueux, ce qui a incité l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à convoquer une consultation sur la production de produits pharmaceutiques de bonne qualité, et le maintien de cette qualité tout au long de la chaîne de distribution (Anonyme 7, 2005) par l'évaluation des risques microbiologiques et physico-chimiques dans les médicaments (Lanet, 1991).

L'importance occupée par le marché pharmaceutique dans le secteur industriel est la raison pour laquelle nous avons effectué notre stage de fin d'étude au sein de la société LDM, groupe contribuant à la production de diverses formes médicamenteuses.

Les anti-inflammatoires figurent parmi une panoplie de médicaments connus et ayant prouvé leur efficacité thérapeutique. C'est la raison pour laquelle nous avons opté pour un

anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) topique utilisé par voie cutanée sous forme d'un Gel commercialisé sous le nom de « KETOPROFENE LDM[®] 2.5% ».

L'intérêt de ce travail est d'estimer si cet AINS répond aux normes de la 9^{ème} édition de la Pharmacopée Européenne 2019 ainsi que l'autorisation de mise sur le marché (AMM).

Pour réussir à répondre à cette problématique, nous avons tracé nos objectifs qui consistent à :

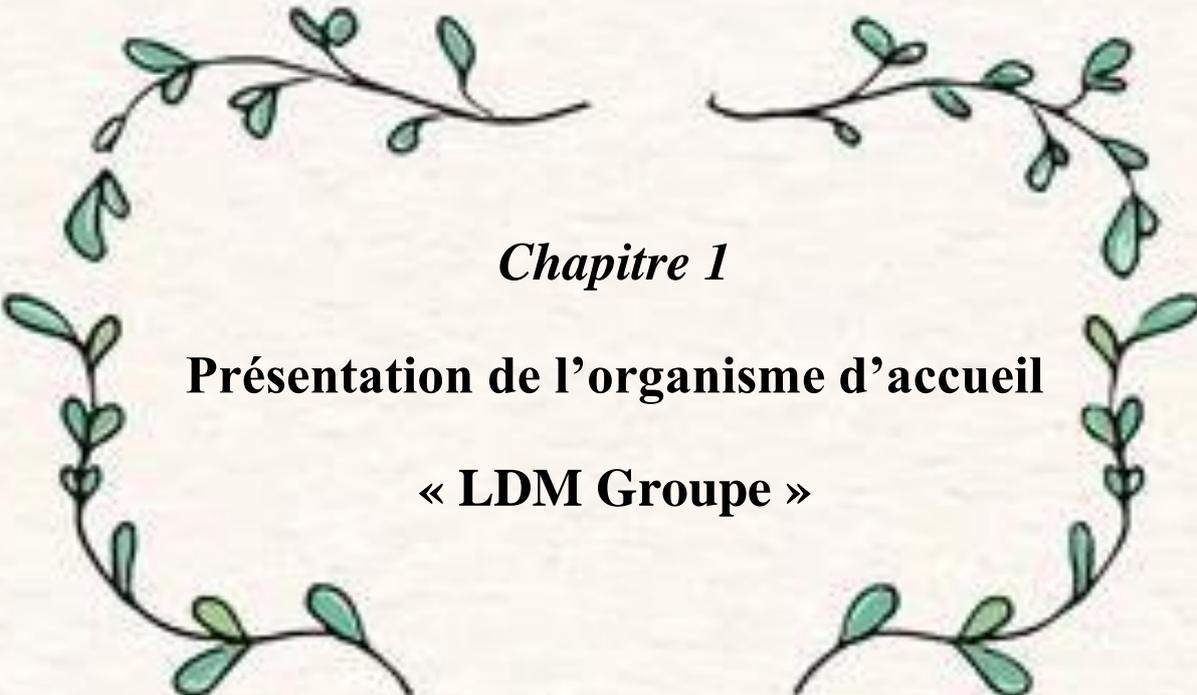
- La mise en évidence et l'acquisition des connaissances pratiques ainsi qu'une connaissance approfondie du secteur d'activité de l'entreprise d'accueil sans oublier le développement de nos compétences.
- Durant la période du stage, de nombreuses tâches nous ont été confiées, la plus importante était de faire le contrôle physico-chimique et microbiologique de KETOPROFENE LDM[®] 2.5% en passant par la matière première et jusqu'au produit fini ; pour déterminer sa conformité aux normes en vigueur et donc sa qualité.

Notre travail s'organise donc en trois parties :

- La première consiste en une présentation de l'industrie pharmaceutique LDM, des généralités sur les médicaments et plus précisément les anti-inflammatoires, les différents concepts de la qualité pharmaceutique. Ainsi, nous nous sommes intéressés en particulier à la description d'un médicament non obligatoirement stérile « KETOPROFENE LDM[®] 2.5% » et des différentes étapes de sa fabrication.
- La seconde partie est consacrée au contrôle physico-chimique et microbiologique réalisé sur ce médicament en partant de sa matière première et jusqu'au produit fini.
- La troisième est réservée aux résultats obtenus, leur discussion et leur comparaison aux normes de la Pharmacopée Européenne 9^{ème} édition (2019).

Synthèse bibliographique





Chapitre 1

Présentation de l'organisme d'accueil

« LDM Groupe »

1- Présentation de l'organisme d'accueil « LDM Groupe »

1.1- Présentation de l'entreprise

Le LABORATOIRES DE DIAGNOSTIC MAGHREBINS « LDM » est une entreprise familiale à régime privé, fondée en 1997 par le directeur général Mohamed El AMMOUCHI avec ses frères Ahmed et Mouloud. Son activité consiste à la production, l'exportation, et l'importation de produits pharmaceutiques à usage humain.

L'industrie pharmaceutique LDM assure :

- La fabrication, le conditionnement et la commercialisation des produits LDM (génériques) et des produits princeps,
- L'importation et la distribution de produits pharmaceutiques et parapharmaceutiques,
- La formulation et développement.

Les coordonnées du LDM sont les suivants :

- Raison sociale : LDM groupe
- Forme juridique : Société à Responsabilité Limité (S.A.R.L)
- Adresse : Zone industrielle Oued Hamimime – El Khroub 25100 – Constantine – ALGERIE.



Figure 1 Carte représentative du site géographique de l'industrie pharmaceutique LDM (Google Maps par satellite).

- Tél : 031 95 53 03 / 04
- Fax : 031 95 51 82
- Site internet : www.ldmgroupe.com
- Email : contact@ldmgroupe.com

- Logo :



1.2- Classes thérapeutiques fabriquées par LDM

LDM a un permis d'exploitation valide délivré par le ministère de la santé pour la fabrication des produits pharmaceutiques présentés sous deux formes :

- « Formes sèches » : gélules, comprimés, poudre pour suspension buvable,
- « Formes semi-solides » des gels, crème et pommades, qui appartiennent à des classes thérapeutiques différentes tel que, les Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens (KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel)

1.3- Compartiments de l'industrie pharmaceutique LDM

L'entreprise « LDM groupe » est répartie en plusieurs espaces comme le montre la figure 2.

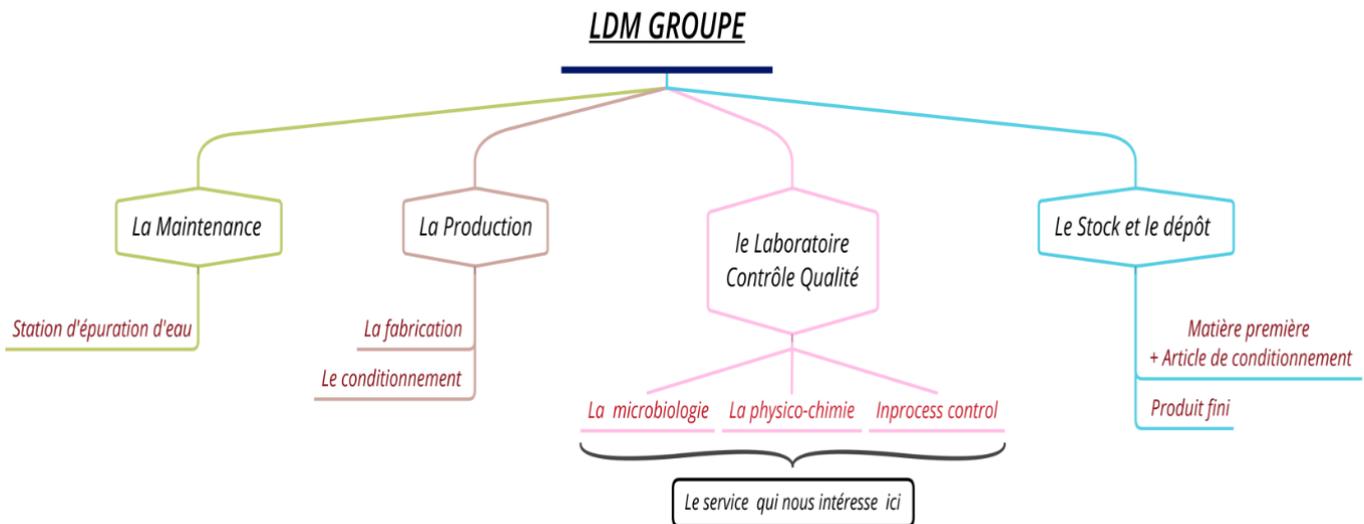


Figure 2 Organigramme de répartition des espaces du LDM groupe

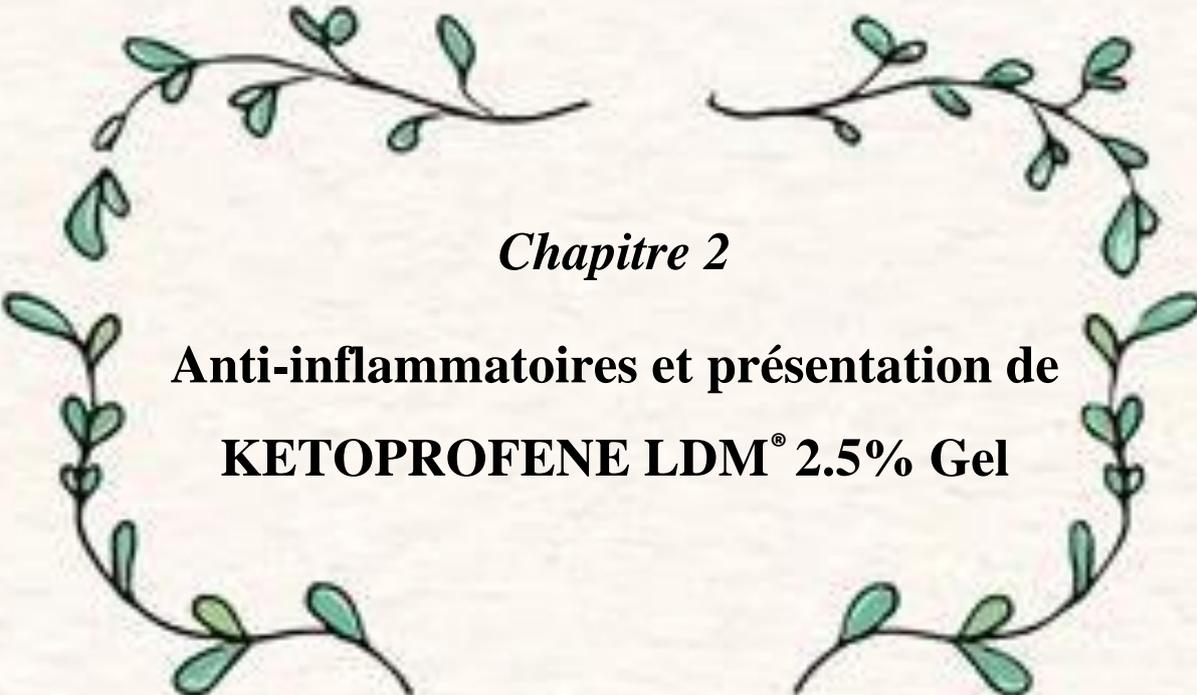
Le Laboratoire Contrôle Qualité s'organise en trois compartiments :

- Un premier compartiment réservé aux analyses microbiologiques des matières premières et les produits finis et à la rédaction des comptes rendus d'analyses de contrôle microbiologique.
- Un deuxième compartiment pour les analyses physico-chimiques des matières premières et du produit fini ainsi que la rédaction des comptes rendus.

- Un service de contrôle en cours de fabrication IPC « *In Process Control* » pour l'assurance de la conformité des substances actives selon les spécifications et la vérification des procédés pendant la production et ajustement des procédés si nécessaire.

1.4- Validation et audit

Le laboratoire contrôle qualité a une décision de validation par le Laboratoire Nationale de Contrôle des produits pharmaceutiques LNCPP renouvelable chaque 2 ans (suite à un audit réalisé par le LNCPP) afin d'effectuer le contrôle physico-chimique et microbiologiques de ses produits.



Chapitre 2

**Anti-inflammatoires et présentation de
KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel**

2- Anti-inflammatoires et présentation de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel

2.1- Inflammation et réaction inflammatoire

2.1.1- Définition

La réaction inflammatoire est un processus physiologique de défense de l'organisme contre une agression qui entraîne une altération tissulaire, elle consiste à éliminer ou à isoler l'agent agresseur (bactérie, virus, parasite, tissu lésé) du reste de l'organisme et à permettre la réparation des tissus et le retour à l'état normal (Gazengel and orecchioni, 2009).

L'inflammation est habituellement bénéfique mais elle peut être néfaste parfois et peut entraîner de multiples effets biologiques et cliniques généraux qui sont d'intensité plus importante du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, et du siège de l'inflammation (Rousselet et *al.*, 2005).

2.1.2-Types d'inflammation

Il existe deux types principaux d'inflammation :

Inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, d'une durée courte (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Rousselet et *al.*, 2005).

Inflammation chronique

Une réaction inflammatoire de manifestation chronique est définie par une réponse prolongée à un agent agresseur qui dure quelques semaines à quelques mois et qui peut mettre en jeu des moyens de défense spécifiques et non spécifiques (Rouleau, 2007). Il s'agit des inflammations n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évoluent en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années (Rousselet et *al.*, 2005).

2.2- Anti-inflammatoires

2.2.1- Définition d'un médicament

Le médicament évoque toute matière ou structure présentée comme disposant des propriétés thérapeutiques ou prophylactique vis-à-vis des maladies humaines ou animales, afin d'établir un diagnostic médical ou d'améliorer, de réparer ou réformer leurs fonctions corporelles en exerçant une action métabolique, immunologique ou pharmacologique (Aiache et *al.*, 2008). Les médicaments existent sous plusieurs classes thérapeutiques, mais on se focalise sur les anti-inflammatoires.

2.2.2-Définition des anti-inflammatoires

Les anti- inflammatoires (AI) font partie d'un groupe de médicaments appartenant à des classes chimiques très variées destinés à traiter -de façon purement symptomatique- une réaction inflammatoire non spécifique des tissus à un agent agresseur et réduire la douleur, l'inflammation, et dans certains cas, la fièvre (Garnier and Delamare, 2017 ; Muster, 2005).

Ils sont utilisés lorsque la réaction inflammatoire est exagérée et chronique ou associée à des phénomènes immunologiques (Gazengel and Orecchioni, 2009).

2.2.3-Types d'anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoire se subdivisent en deux grandes familles :

2.2.3.1- Anti-inflammatoires stéroïdiens ou corticoïdes (AIS)

Également appelés corticostéroïdes, ces produits sont dérivés des corticostéroïdes naturels, hormones secrétées par les glandes surrénales. Ils sont très puissants et permettent de contrôler l'inflammation quand elle devient sévère ou qu'elle se déclenche sans raison apparente, comme dans le cas des maladies dites inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, allergie sévère...). L'altération de la peau, la fragilité osseuse, l'apparition d'un état diabétique fait partie des effets indésirables des AIS (Caron, 2006).

2.2.3.2- Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) font partie des médicaments les plus fréquemment prescrits dans le monde (4.5% de la consommation médicamenteuse des pays industrialisés) (Anonyme 6, 2000). Les AINS sont des médicaments symptomatiques destinés à traiter la réaction inflammatoire et les maladies rhumatismales, quelle qu'en soit la cause (physique, chimique, infectieuse, tumorale...etc.). Ils agissent sur les signes locaux de l'inflammation (rougeurs, chaleur, douleur et œdème) (Bannwarth, 1992). Ils sont surtout efficaces dans les phases aiguës de l'inflammation et sont utilisés en rhumatologie, en urologie (colique néphrétique) et en gynécologie (Caron, 2006). Les AINS sont utilisés lorsque la réaction inflammatoire devient chronique (la fièvre...), exagérée ou associée à des phénomènes immunologiques (Elghozi and Duval, 1987).

2.2.4-Mode d'action des anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (Cox), une enzyme qui intervient au sommet d'une cascade, aboutissant à la formation de substances impliquées dans l'inflammation, la fièvre, l'agrégation des plaquettes sanguines (Gazengel and Orecchioni, 2009). Les anti-inflammatoires bloquent la transformation de l'acide arachidonique en

prostaglandines, prostacyclines ou thromboxanes entraînant par la suite une diminution des effets de l'inflammation (anonyme 9, 2020) comme le montre la figure 3.

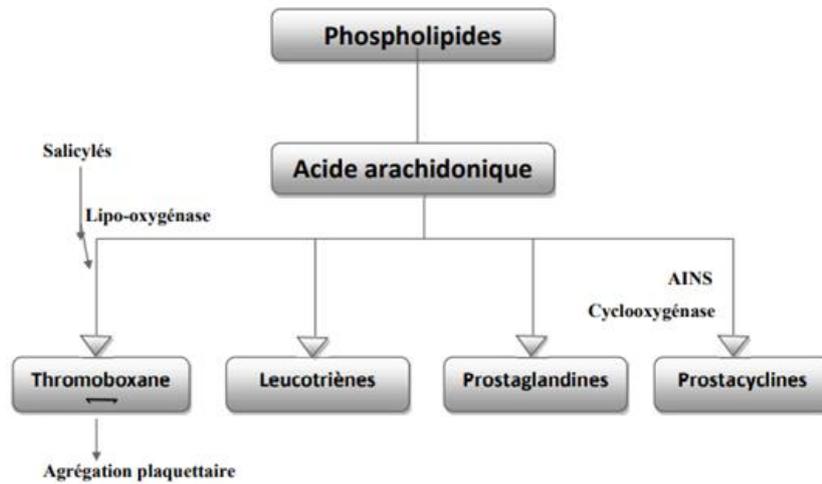


Figure 3 Mécanisme d'action des anti-inflammatoires (Gazengel and Orecchioni, 2009).

2.3- Présentation du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel

2.3.1- Dénomination

✓ **Nom de la spécialité/ commercial** : KETOPROFENE LDM

Il est conféré à une molécule par l'industrie pharmaceutique qui la produit. À la différence de la DCI, il pourra différer d'un pays à l'autre.

✓ **Dénomination Commune Internationale « DCI »** : Kétoprofène

Il s'agit du nom abrégé de la molécule chimique contenue dans le médicament. Elle permet d'éviter tout risque de confusion, et elle sert de langage commun à l'ensemble des professionnels de santé et des patients, quel que soit leur pays (Le Bail, 2017).

✓ **Nom chimique** : Acide benzoylephényl propanoïque

Cette désignation est l'interprétation exacte de la molécule chimique de l'ingrédient actif du médicament. Il est surtout utilisé par les chercheurs (Leclerc et al., 2016).

Le produit est présenté dans la figure 4.



Figure 4 Emballage de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel.

2.3.2-Définition et forme

ANTALGIQUES ANTI RHUMATISMAUX EXTERNES BAUMES RÉPULSIFS.

Le KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel est un médicament générique fabriqué par le laboratoire LDM group, c'est-à-dire qu'il répond aux mêmes critères de qualité, d'efficacité, de sécurité et d'innocuité que le produit de référence (princeps) (Nouhoum, 2009). Le gel KETOPROFENE LDM® 2.5% est un anti-inflammatoire non stéroïdien utilisé dans le traitement local des douleurs des petites articulations dues à l'arthrose, des tendinites, des entorses et contusions, des lombalgies aiguës. Il est réservé à l'adulte (plus de 15 ans) et destiné à une application locale par voie cutanée sur la région douloureuse ou inflammatoire (annexe 1). La formule chimique brute du Ketoprofenum est de $C_{16}H_{14}O_3$. Sa structure chimique est présentée dans la figure 5.

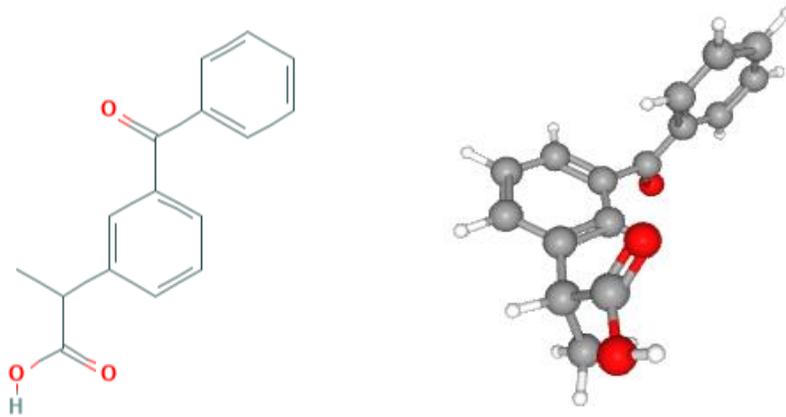


Figure 5 Représentation de la structure chimique du kétoprofène en 2D et en 3D (Anonyme 10,2020)

2.3.3-Composition

Selon la Pharmacopée Européenne, le KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel est composé d'un :

Principe actif : Kétoprofène « ketoprofenum »

Le principe actif est une molécule minérale ou organique, naturelle ou synthétique, de structure chimique la plus souvent connue qui, grâce ses propriétés pharmacologique, elle confère au médicament son activité thérapeutique (Katzung, 2006).

Excipients : Carbomère 980, éthanol 96%, methylparaben, propylparaben, tri éthanolamine, huile essentielle de lavande.

L'excipient est une substance d'origine chimique ou naturelle autre que le principe actif et ne présente pas d'effet curatif ou préventif (anonyme 2, 2020). Les excipients doivent faciliter l'administration des principes actifs au niveau de l'organisme, améliorer leur efficacité et

éventuellement permettre une libération modifiée (flash ou retardée) des principes actifs et contribuer ainsi à certaines propriétés du médicament telles que l'aspect, la stabilité, et la facilité de fabrication (Le Hir et *al.*, 2009).

2.3.4-Propriétés

Le tableau suivant donne les différentes propriétés du produit qui sont inscrites sur la notice qui accompagne le médicament (annexe 1).

Tableau 1 Propriétés du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel.

Propriétés du KETOPROFENE LDM® 2.5%	Descriptions
Classe pharmaco-thérapeutique	<ul style="list-style-type: none">• Anti-inflammatoire non stéroïdien en topique
Indications thérapeutiques	<ul style="list-style-type: none">• Tendinites superficielles.• Traumatologie bénigne : entorses, contusion.• Arthroses des petites articulations.• Lombalgie aiguë.• Traitement des veinites post-sclérothérapie en cas de réaction inflammatoire intenses.
Contre-indication	<ul style="list-style-type: none">• Réactions de photosensibilité.• Allergie cutanée au kétoprofène, à l'acide tiaprofénique, au fénofibrate, aux écrans anti-UV ou aux parfums.• Allergie à l'un des excipients• Peau lésée. Quelle que soit la lésion.
Posologie	<ul style="list-style-type: none">• Entorses, contusions, veinites, post-sclérothérapie : 2 applications par jour.• Tendinites : 2 applications par jour.• Arthrose : 3 applications par jour.• Lombalgie aiguë : 3 applications par jour les 3 premiers jours, puis 2 applications par jour les 4 jours suivants.
Mode d'administration	<ul style="list-style-type: none">• Faire pénétrer le gel par un massage doux et prolongé, sur la région douloureuse ou inflammatoire.• Se laver soigneusement et de façon prolongée les mains après utilisation.
En cas de surdosage	<ul style="list-style-type: none">• Rincer abondamment à l'eau.

2.3.5-Mode d'action

Le kétoprofène est un dérivé d'acide propionique et un AINS ayant des effets anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques. Ses effets anti-inflammatoires sont dus à l'inhibition de la cyclooxygénase-2 (COX-2) entraînant une diminution des taux de

prostaglandines par la prostaglandine-synthase et la synthèse du thromboxane A2 par la thromboxane-synthase, qui atténuent la douleur, la fièvre et l'inflammation (anonyme 10,2020).

2.3.6-Critères de choix

Les critères de sélection du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel sont les suivants :

- Toute personne peut être exposée à des pathogènes (infections bactériennes ou virales), ou des lésions physiques (blessure ou piqûre d'insectes) pouvant provoquer une inflammation potentiellement néfaste pour l'organisme et qui doit être contrôlée par des traitements anti-inflammatoires (anonyme 11,2020),
- Par ailleurs, ce médicament est destiné aux malades qui souffrent d'arthrose souvent liés au mode de vie de la population méditerranéenne (anonyme 12,2020),
- La maîtrise de son processus de fabrication par le groupe LDM.

2.4- Processus de fabrication

La production médicamenteuse regroupe l'ensemble des opérations de transformation des matières premières en produits finis. Elle répond à des normes de qualité nationales et internationales très strictes, et garantit le respect de l'hygiène, de l'environnement et de la sécurité. Tous les établissements fabriquant des produits pharmaceutiques doivent se soumettre aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). Ces dernières sont destinées à assurer la qualité des médicaments selon les normes exigées par l'AMM. Elles concernent les locaux, le matériel de fabrication, le personnel et les conditions de fabrication à tous les stades (Rebiere et *al.*, 2007).

Ci-dessous un modèle de différentes étapes de production du KETOPROFENE LDM® 2.5% sous forme d'un gel dans un tube de 60 g (figure 6).

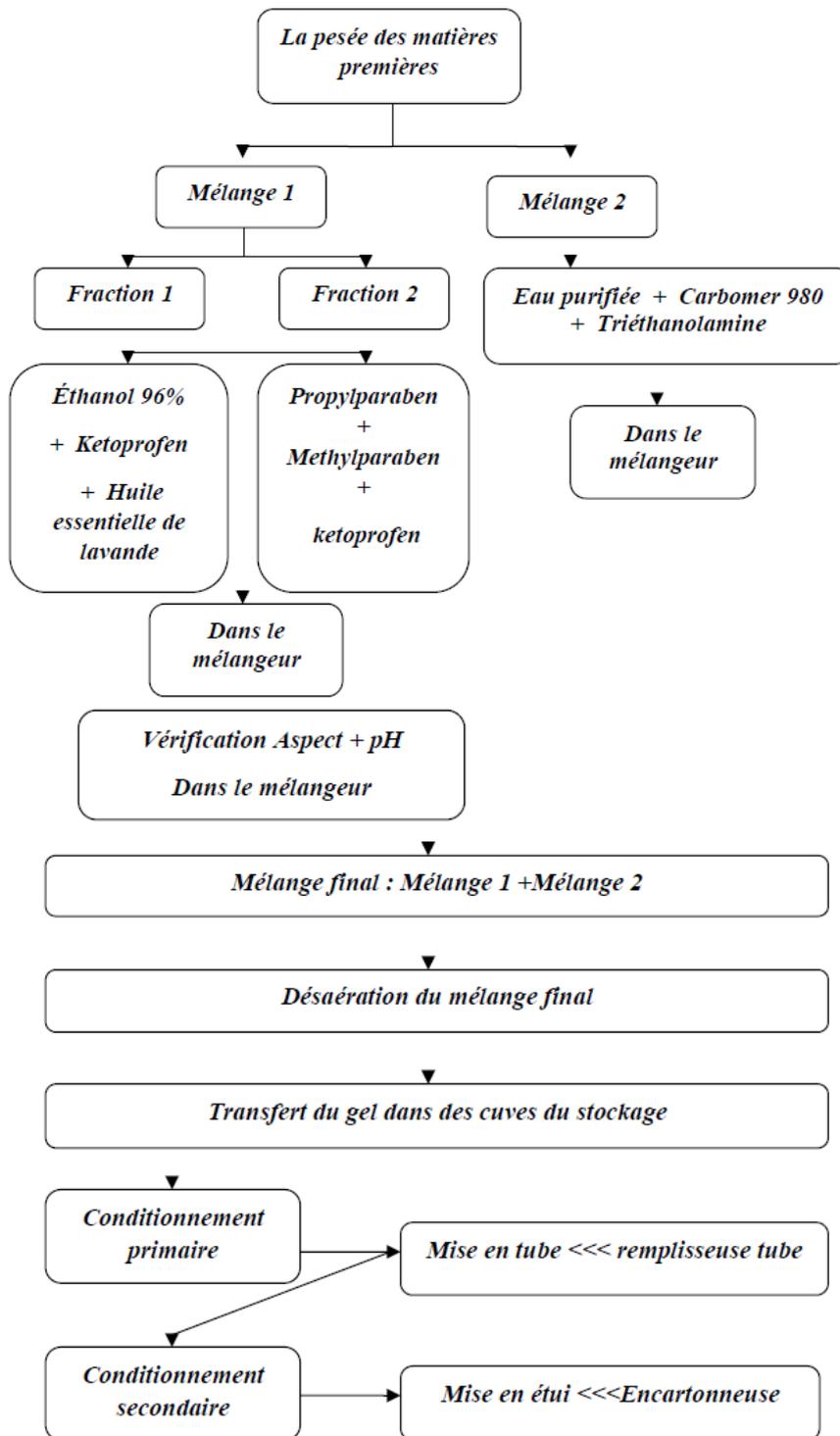
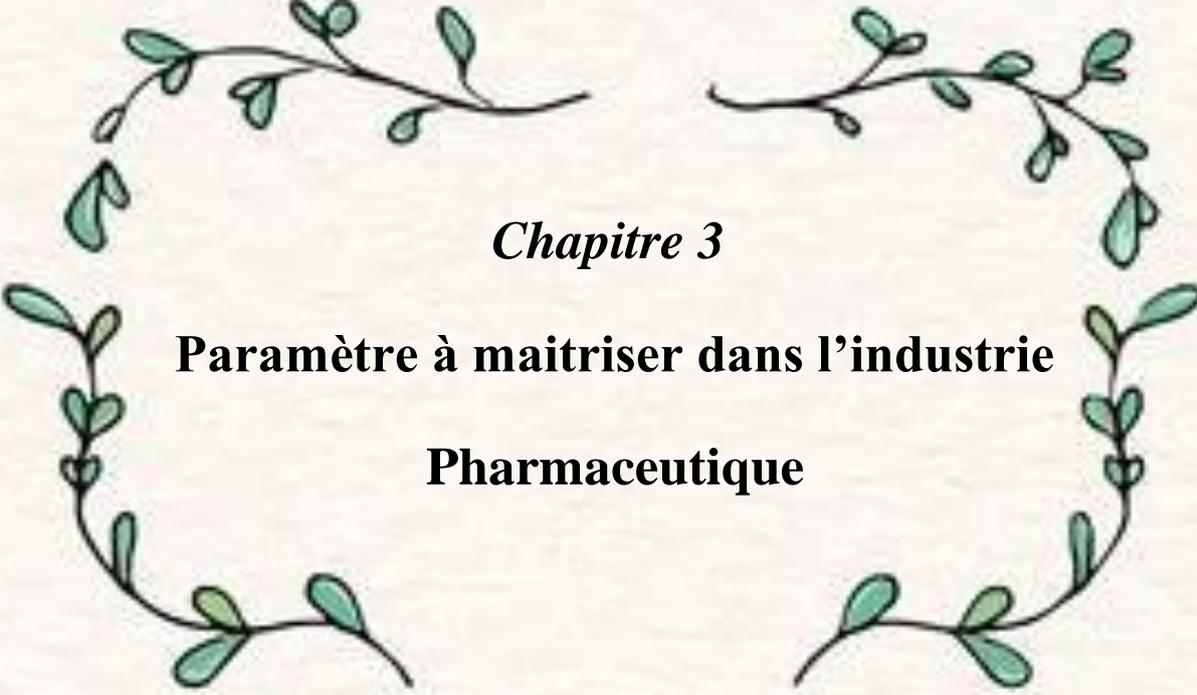


Figure 6 Flux d'opération de fabrication de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel.



Chapitre 3

Paramètre à maîtriser dans l'industrie

Pharmaceutique

3- Paramètres à maîtriser dans l'industrie Pharmaceutique

3.1- Qualité

L'OMS, détermine la qualité d'un médicament, par son efficacité et son innocuité, en accord avec les indications sur l'étiquette ou ce qui a été promu ou annoncé, et par conformité aux spécifications concernant son identité, sa pureté et d'autres caractéristiques (WHO, 2000).

3.2- Assurance qualité

L'assurance qualité est un large concept qui couvre tout ce qui, individuellement et collectivement, peut influencer la qualité d'un produit. Elle englobe toutes les bonnes pratiques (BPL, BPF, BPD...) ainsi que le contrôle qualité (Keravec, 2004 ; BPF, 2011).

La norme ISO 8402 définit l'assurance qualité comme un ensemble d'activités préétablies et systématiquement mises en œuvre dans le cadre du système qualité et démontrées en tant que besoins pour donner la confiance appropriée en ce qu'une entité répond aux exigences pour la qualité (Giesen, 2008).

3.2.1-Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL)

Depuis 1978, les « Bonnes Pratiques de Laboratoire » règlementent l'assurance qualité dans la recherche et le développement de produits pharmaceutiques les exigences en matière de personnel, d'espace et d'appareils ainsi que les responsabilités lors du contrôle. Ces règles visent ainsi à éviter les scandales sanitaires dans l'industrie pharmaceutique. L'autorisation d'opérations liées aux BPL ne peut être donnée que si tous les contrôles ont été effectués et entièrement documentés (anonyme 8,2020).

3.2.2-Bonnes Pratiques de Fabrication des produits pharmaceutiques (BPF)

Les bonnes pratiques de fabrication des médicaments constituent l'un des éléments de l'assurance qualité ; elles garantissent une fabrication selon les normes de qualité adaptées à leur emploi et requises par l'AMM (BPF, 2011). Elles comportent des directives relatives au personnel, aux installations, à l'équipement, aux matériaux, aux opérations de fabrication, à l'étiquetage, au conditionnement et au contrôle de qualité. Dans la plupart des cas, ces B.P.F. incluent, également, des tests de stabilité qui varient d'un pays à un autre (Wehrlé, 2012).

Les BPF s'appliquent aux étapes du cycle de vie, depuis la fabrication des médicaments expérimentaux, le transfert de technologies, la fabrication commerciale jusqu'à l'arrêt du produit (Daikh and Dafri, 2017).

3.2.3-Contrôle qualité

Le contrôle qualité se base sur des tests de contrôles obligatoires dans les laboratoires qui répondant aux bonnes pratiques de laboratoires (BPL) (WHO, 2006). Il vise à vérifier, mesurer le degré de conformité des caractéristiques d'un produit aux spécifications préétablies, ainsi l'acceptation ou le refus des produits (Le Hir et *al.*, 2009)

Les contrôles se font :

- En amont de la production : les matières premières.
- Au cours de fabrication : étapes intermédiaires (le sirop avant l'étape de stockage).
- En fin de fabrication : sur produit fini, ainsi que les articles de conditionnement (Mathieu et *al.*, 1996).

Toute matière première ou produit non contrôlé demeure en quarantaine. Si les analyses sont conformes, les matières ou les produits sont libérés. Dans le cas contraire, ils sont rejetés, et souvent détruits (Le Hir et *al.*, 2009).

Pour que le contrôle puisse être exercé efficacement il faut que la conjugaison de laboratoire soit bien équipée, aminée par des pharmaciens analystes dans au moins deux département de base :

- Département des essais physico-chimique.
- Département des essais microbiologiques.

3.2.3.1- Contrôle physico-chimique

Les contrôles physico-chimiques permettent de vérifier la qualité pharmaceutique des médicaments commercialisés (Ph. Eur, 2016). Ils servent à vérifier la conformité aux normes du médicament par plusieurs méthodes analytiques qualitatives et quantitatives au cours de la chaîne de production en l'occurrence, contrôle des matières premières (substances active(s) et excipients), IPC des produits semi-finis et finis (Bonnet, 2007).

Le contrôle physico-chimique vise à :

- Déterminer les caractéristiques organoleptiques des différentes formes pharmaceutiques (aspect, couleur.),
- Identifier et doser le ou les principes actifs,
- Déterminer la présence d'éventuelles impuretés et les quantifier,
- Déterminer les caractères pharmaco-techniques en relation avec la forme pharmaceutique (désintégration, dissolution sécabilité, pH, osmolarité, taille des particules...) (Bouchard, 2009).

3.2.3.2- Contrôle microbiologique

La qualité microbiologique des médicaments demeure une source de préoccupations pour les organismes réglementaires, les fabricants et les professionnels des services de santé et des patients. Ainsi, la présence de certains microorganismes dans des préparations non-stérile peut réduire voire annuler l'activité thérapeutique du produit, et constitue un danger pour la santé du patient (Ph. Eur ,2007).

Les contrôles microbiologiques doivent assurer une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué pour garantir un bon rendement, minimiser les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication et à la non-conformité du produit (Scriban, 1999).

Ces analyses microbiologiques se font sur les matières premières, les lots destinés au produit fini, ainsi que le contrôle de l'eau purifiée/potable utilisé dans le nettoyage du matériel de production. Ils portent sur le dénombrement des germes aérobies viables totaux (les bactéries, les levures et les moisissures) et la recherche des microorganismes spécifiques (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, les salmonelles et les entérobactéries) (Bonnet, 2007).

3.3- Référentiel

Un référentiel est un ensemble des critères regroupés et publiés sous forme de monographies auxquelles doivent se référer les fabricants et/ou importateurs de médicaments. Ces pharmacopées traitent de différentes substances chimiques, formes pharmaceutiques et préparations (Koissi joel, 2008).

3.3.1- Pharmacopée

La pharmacopée représente un ouvrage réglementaire destiné aux professionnels de la santé. Elle regroupe, sous forme de monographies spécifiques ou générales, les critères liés à la pureté des matières premières ou préparations permettant d'assurer une qualité optimale lors de la fabrication des médicaments, ainsi que les méthodes d'analyse et contrôle.

Selon l'état qui publie la pharmacopée, il existe plusieurs éditions : pharmacopée Américaine (USP), pharmacopée Japonaise (JP), pharmacopée Européenne (PE) ainsi que la pharmacopée Britannique (BP), Brésilienne, Indienne...etc. (Ph. Eur, 2014).

La pharmacopée appliquée sur le territoire de l'Algérie est l'édition Européenne.

Pharmacopée européenne :

Cette pharmacopée est une norme pharmaceutique largement utilisée à l'échelle internationale qui uniformise la composition qualitative et quantitative des médicaments grâce à un recueil de monographies. Ce recueil comprend, selon l'article R5001 du Code de la Santé Publique :

- La nomenclature des drogues et des médicaments,
- Une liste des dénominations communes des médicaments,
- Les caractères et les moyens d'identification des médicaments,
- Les méthodes d'essai et d'analyse à utiliser pour assurer leur contrôle.

La première version de la pharmacopée européenne a vu le jour en 1964 et a permis de standardiser la qualité des produits pharmaceutiques au niveau communautaire (Ph. Eur, 2007).

3.3.2-Autorisation de mise sur le marché (AMM)

La notion d'autorisation de mise sur le marché, émise par l'autorité compétente de réglementation pharmaceutique, est nécessaire pour la commercialisation de la spécialité pharmaceutique sur le marché européen après évaluation de son innocuité, son efficacité et sa qualité (OMS, 2000 ; Sébastien et *al.*, 2014). Le non-respect de cette obligation est puni de deux ans d'emprisonnement et de 30000 € d'amende (Sébastien et *al.*, 2014).

Le dossier doit contenir le nom du produit, la forme galénique, la formule (avec les excipients), les quantités par dose unitaire (en se servant des dénominations communes internationales ou des noms génériques dans les pays lorsqu'ils existent), la durée de vie, les conditions de stockage et les caractéristiques du conditionnement. Cette autorisation comporte également des informations agréées destinées aux professionnels de la santé et au public, la catégorie de vente, le nom et l'adresse du détenteur de l'autorisation et la durée de validité de celle-ci (Komguep, 2005).

3.3.3-Monographie générale

Une monographie est un ensemble de spécifications définissant des caractéristiques qualitatives et quantitatives des matières premières ou produits finis pharmaceutiques en vue d'assurer une qualité optimale (Ounas ,2016). Toutes les substances actives et tous les excipients décrits dans la Pharmacopée Européenne sont soumis aux dispositions de la monographie générale.

Les monographies se composent de plusieurs rubriques :

- Titre,
- Définition,
- Caractères,
- Identification,
- Essai,
- Dosage,
- Impuretés.

3.3.4- Approche des 5 M (Diagramme d'Ishikawa)

Chaque industrie pharmaceutique se doit de concevoir et de mettre en œuvre une politique de qualité pour éviter les risques de non-qualité qui peuvent survenir en cours de fabrication et de conditionnement. Afin d'atteindre cet objectif il est mis en place selon les BPF la règle des 5M dont la qualification fait partie intégrante (Ernoul, 2013).

Les 5M donc représentent les cinq paramètres clés qui vont influencer sur la qualité des produits et services. Définis par Ishikawa, ils sont très souvent cités, repérés comme des éléments de maîtrise d'une activité ou d'un processus.

Les 5 questions à se poser sont les suivantes :

- La main d'œuvre (le personnel) : est-il compétent, formé ?
- Les matériaux sont-ils adaptés, entretenus ?
- Les méthodes de travail sont-elles définies, validés ?
- Le milieu (environnement de travail) est-il adapté ?
- Les matières premières sont-elles satisfaisantes ?

On représente ces paramètres à l'aide du diagramme des 5M (qui prend la forme d'un diagramme **cause effet**, dit aussi en arête de poisson) (Margerand et *al.*, 2006).

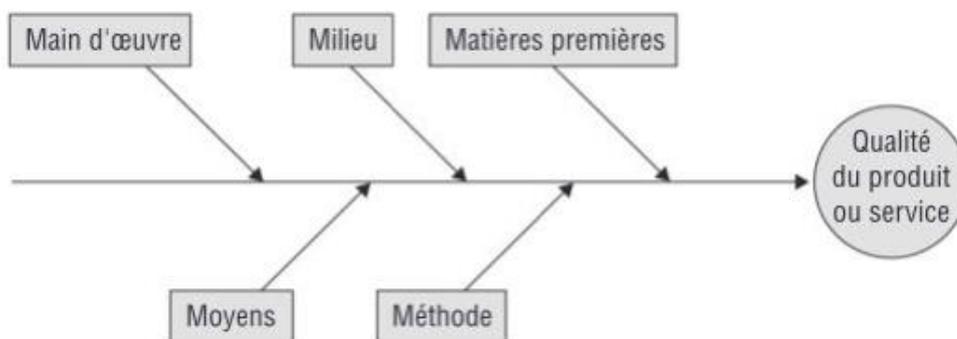
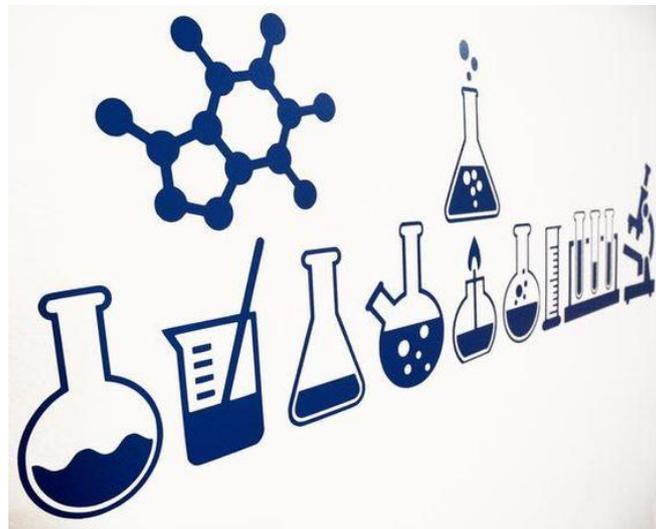


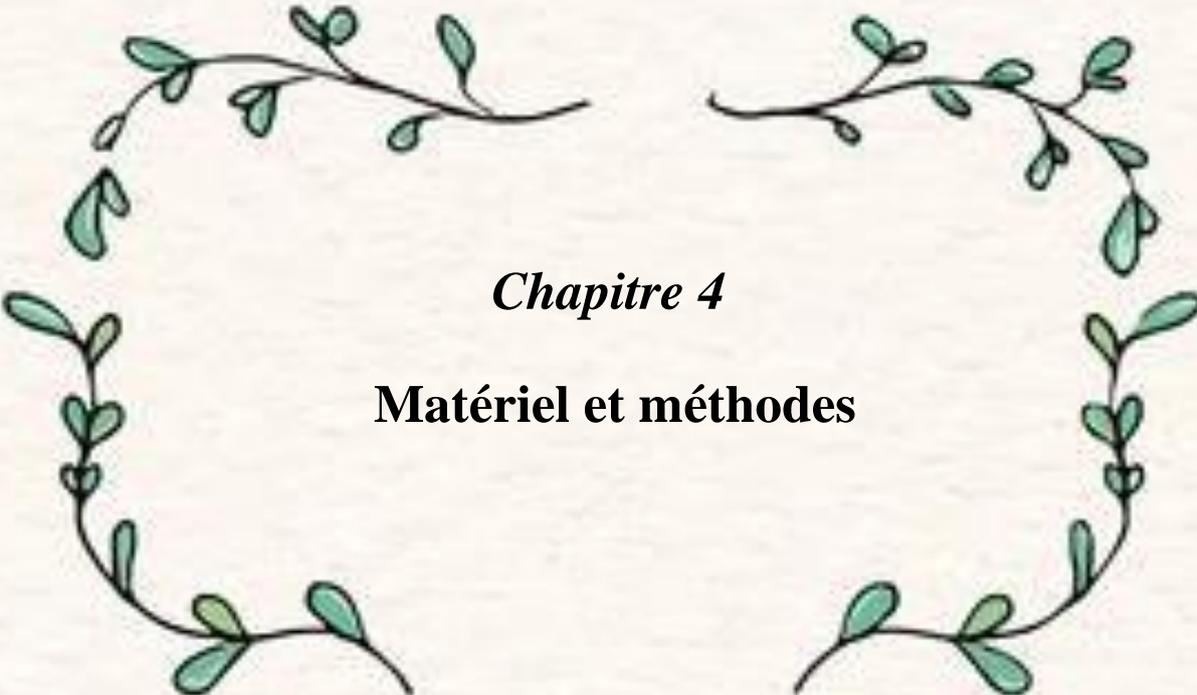
Figure 7 Diagramme d'Ishikawa (règles des 5M) (Margerand et *al.*, 2006).

3.4- Validation et qualification

Selon les BPF, la validation est une approche systématique obligatoire pour la vérification du respect des normes de qualité et de conformité d'un produit pharmaceutique en temps réel (Simpson, 2016). La validation concerne les procédés de fabrication, de nettoyage, les systèmes informatisés et les méthodes analytiques. Cependant, la qualification s'applique, principalement aux équipements et aux installations utilisées pour la fabrication, le conditionnement et l'efficacité du produit (WHO, 2006).

Etude expérimentale





Chapitre 4

Matériel et méthodes

4- Matériel et méthodes

4.1- Contrôle physico-chimique du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel

Dans ce chapitre sont présentés les méthodes employées et le matériel nécessaire pour effectuer le contrôle qualité physico-chimique de la matière première et du produit fini du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel. Le médicament suit un processus extrêmement réglementé où le contrôle qualité et le respect des bonnes pratiques de fabrication sont primordiaux.

4.1.1-Contrôle physico-chimique de la matière première

Le contrôle physico-chimique de la matière première est nécessaire pour assurer la qualité et la conformité du principe actif et des différents excipients aux normes dictées par la pharmacopée européenne 9ème édition.

4.1.1.1- Contrôle du principe actif

Le contrôle du principe actif, l'acide benzoylphényl propanoïque ($C_{16}H_{14}O_3$), est effectué par des essais afin d'évaluer le degré de pureté. Il s'agit de tests d'identification par spectrophotométrie Infra Rouge (IR), des tests du dosage par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC), ainsi que d'autres essais tel que la solubilité, les substances apparentées, cendres sulfuriques, la perte à la dessiccation, etc.

Caractères

Aspect et solubilité

L'aspect du principe actif (Acide benzoylphényl propanoïque) est examiné visuellement pour confirmer que c'est une poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche. Sa solubilité, c'est-à-dire, sa capacité à se dissoudre dans différents solvants organiques, cités dans le tableau 2, est également étudiée.

Tableau 2 Différents solvants utilisés pour tester la solubilité du principe actif.

Solvants	Masse du kétoprofène (mg)	Quantité (ml)
Eau	10	100
Ethanol 96%	100	100
Chlorure de méthylène	10	100

Identification de la substance

Le test d'identification est effectué par des techniques d'analyse spectrales, afin de confirmer l'identité de l'Acide benzoylphényl propanoïque.

Spectrophotométrie infrarouge (IR)

- *Principe* : C'est une technique d'analyse qualitative permettant de révéler les groupes fonctionnels présents dans les molécules par rayonnement infrarouge. Le rayonnement infrarouge dispense suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergies supérieures, une résonance électromagnétique. La diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la longueur d'onde, c'est-à-dire, l'énergie est absorbé par la molécule, et elle est révélée par un spectre de bandes étroites caractéristique de la substance analysée (Wojtkowiak and Chabanel, 1977).
- *Mode opératoire* : Une quantité suffisante du principe actif est placée dans le compartiment d'échantillon sur lequel une pression est exercée afin d'enregistrer les spectres infrarouges.
- *Norme* : Le spectre est comparé avec celui d'une Substance Chimique de Référence (SCR) fournie par la pharmacopée européenne.

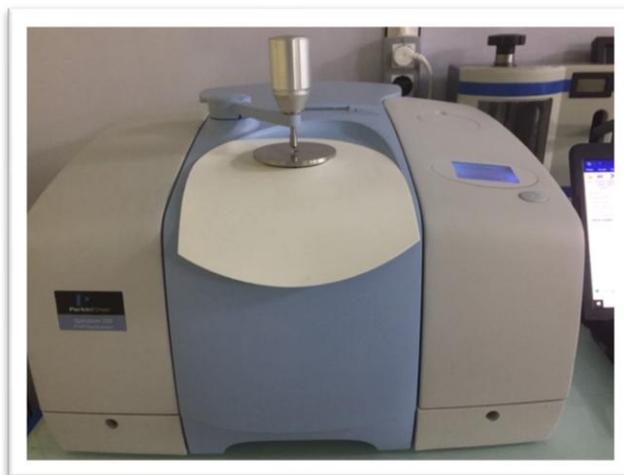


Figure 8 IR de la marque PARKIELMER

Essai

Aspect de la solution : Techniquement, 1 g de kétoprofène est dissout dans 10 ml d'acétone pur (R) puis l'aspect et la couleur de cette solution sont comparés avec une solution témoin J₆ (6^{ème} dégradation de la couleur jaune : jaune pâle) (annexe 7).

- *Norme* : Comparaison avec la solution témoin J₆ (6^{ème} dégradation du jaune : jaune pâle).

Substances apparentées

Ce test est réalisé par la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et sert à identifier la molécule du principe actif par comparaison à la molécule de référence

(kétoprofène *SCR*). C'est une technique d'analyse à la fois qualitative et quantitative fréquemment utilisée en chimie analytique. Elle permet la séparation des composants d'un mélange non volatile, thermosensible, de polarités différentes par affinité à une phase stationnaire. La phase stationnaire est représentée par une colonne au gel de silice (Burgot and burgot 2011 ; Rouessac and rouessac 2004). Par contre, la phase mobile est constituée d'un solvant pompé à travers la colonne. La séparation est réalisée par principe d'affinité de chaque composant à l'une des deux phases. Les composés ayant une grande affinité envers la phase mobile ne sont pas retenus et migrent plus rapidement vers le bas de la colonne. Par contre, ceux qui ont une grande affinité envers la phase stationnaire sont retenus et migrent plus lentement (Shen and Smith, 2008).



Figure 9 Appareil HPLC

- *Mode opératoire*

La solution à examiner : 20mg de KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel sont dissouts dans 20 ml de la phase mobile (tableau 3) en complétant avec le même solvant.

La solution témoin a : 1ml est prélevé de la solution à examiner et est complété à 50 ml avec la phase mobile, ensuite 1ml de ce dernier mélange est mis dans 10 ml de la phase mobile.

La solution témoin b : 5mg d'impureté A (benzoylphenyl éthanone) de kétoprofène *SCR* sont dissouts dans 50ml de la phase mobile, puis 1ml de cette solution est transféré dans 50ml de la phase mobile.

La solution témoin c : 5mg d'impureté C (acide carboxyéthyl benzoïque) du kétoprofène sont dissouts dans 50 ml de la phase mobile, puis 1ml de cette solution est mise dans 50 ml du même solvant.

La solution témoin d : 1ml est prélevé de la solution à examiner et complété à 100ml de la phase mobile. Puis 1 ml de la solution témoin b est ajouté à 1 ml de cette solution.

Ces solutions témoins sont préparées et filtrées à l'aide d'un filtre de 0.45µm dans les vials puis placées dans le carrousel d'HPLC afin d'être analysées. Les conditions chromatographiques sont les résumées dans le tableau 3.

Tableau 3 Conditions chromatographiques pour substances apparentées.

Colonne	Colonne analytique (0,15m de longueur et 4,6 mm de diamètre). Phase stationnaire en gel de silice octylsilylé pour chromatographie (5µm).
Phase mobile	Solution tampon phosphate pH 3.5 : l'acétonitrile : l'eau (43 :55 v/v)
Débit	1 ml/min
Volume d'injection	20 µL
Longueur d'onde	233 nm

Perte à la dessiccation

La perte à la dessiccation est la perte de masse après évaporation de l'eau libre contenue dans le produit. Elle est exprimée en pourcentage.

- *Mode opératoire*

Soit (**W1**), le poids sec d'un creuset vide après séchage dans l'étuve à 60°C pendant 30 min et (**W2**), le poids humide du creuset sec dans lequel est introduit 1g de kétoprofène. Enfin le (**W3**) correspond au poids obtenu après séchage à l'étuve à 60°C pendant 3h suivi d'un refroidissement dans un dessiccateur sous une pression $P \leq 0.67$ kPa.

La perte à la dessiccation est calculée comme suit :

$$LOD \% = (W2 - W3 / W2 - W1) * 100$$

- *Norme: LOD % ≤ 0.5%.*

Cendres sulfuriques

Les cendres sulfuriques sont des indicateurs d'impuretés minérales. Ils sont obtenus par simple calcination au four à moufle jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Ce four généralement est utilisé pour la stérilisation, le séchage ou le chauffage et peut aller de +5°C à 250°C (Anonyme 3, 2005).

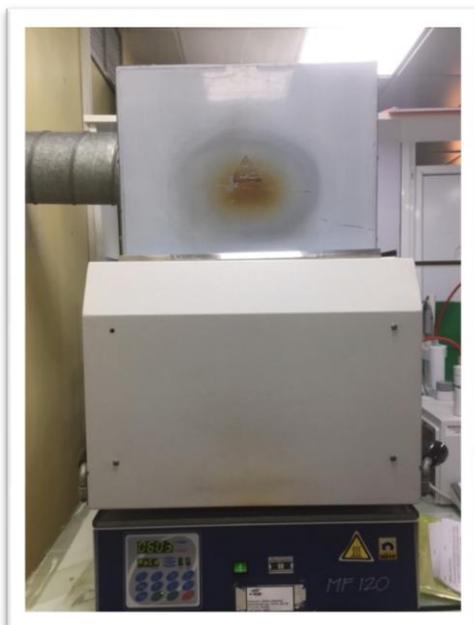


Figure 10 Four à moufle de la marque NUVE.

- *Mode opératoire*

(**W1**) constitue le poids d'un creuset vide chauffé pendant 30 min, puis refroidi dans un dessiccateur sous vide. Le (**W2**) correspond au poids de la prise d'essai placée dans le creuset. Par la suite, 1 ml d'acide sulfurique y est ajouté et le creuset est chauffé jusqu'à évaporation et disparition des fumées blanches. Après refroidissement dans le dessiccateur, le creuset est mis dans un four à moufle pour la calcination jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**W3**).

Le pourcentage des Cendres Sulfuriques (**Cs**) est calculé selon la formule suivante:

$$Cs = [(W2 - W3) / (W2 - W1)] * 100$$

- *Norme*: $\leq 0.1\%$.

Dosage par potentiométrie (titrimétrie)

La mesure des potentiels au cours d'une réaction permet de doser les solutions et de calculer la concentration des espèces.

- *Mode opératoire* : 0.2g de kétoprofène est dissout dans 25 ml d'éthanol 96% auquel est ajouté 25 ml d'eau. Ce mélange est titré par l'hydroxyde de sodium (NaOH) 0.1 M à l'aide d'un potentiomètre.
- *Norme* : 1 ml de NaOH 0.1 M \rightarrow 25.43 mg de $C_{16}H_{14}O_3$.

4.1.1.2- Contrôle des excipients

Le KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel comporte six excipients en l'occurrence, Carbomère 980, éthanol à 96%, Methylparaben, Propylparaben, Triéthanolamine, huile essentielle de lavande.

4.1.1.2.1- Carbomère 980 (CO₂H)

✚ Caractères

L'aspect du carbomère 980 ainsi que sa solubilité sont vérifiés à l'œil nu. Différents solvants organiques polaires (l'eau et d'autre solvant) ont été mis en contact avec l'excipient après dispersion et neutralisation avec une solution NaOH.

✚ Identification

Un test d'identification est effectué par spectrophotométrie IR afin de confirmer l'identité du Carbomère 980 avec le spectre de référence du carbomère 980 SCR.

✚ Essai

Perte à la dessiccation

Elle est déterminée sous vide à 80°C pendant 60 min sur 1g de carbomère 980. Les différentes étapes de ce test sont identiques à celles décrites dans la section « voir 4.1.1.1 Contrôle du principe actif : essai ».

- Norme : maximum 3.0%.

Cendres sulfuriques

Les cendres sulfuriques de 1g de carbomère 980 sont déterminées comme décrit précédemment « voir 4.1.1.1 Contrôle du principe actif : essai ».

- Norme: maximum 4.0 %

4.1.1.2.2- Ethanol à 96% (C₂H₆O)

✚ Caractères

L'aspect de l'éthanol à 96%, est vérifié à l'œil nu, et sa solubilité est étudiée dans l'eau et le chlorure de méthylène. Le caractère inflammable est également testé sous une flamme bleue.

✚ Identification

L'éthanol à 96% est identifié par spectrophotométrie infrarouge par comparaison avec le spectre de référence de l'éthanol à 96 % (éthanol à 96% SCR) de la Pharmacopée européenne.

✚ Essais

Différents essais exigés par la Pharmacopée européenne 9ème édition ont été effectués afin d'évaluer le degré de pureté de cet excipient.

Aspect de la solution

1ml d'éthanol à 96% est dilué dans 20 ml d'eau pure (R).

- *Norme* : L'aspect est comparé à l'eau purifiée.

Densité

La densité consiste à vérifier si la masse volumique d'une matière première varie. Elle est indicatrice d'un changement pouvant affecter l'efficacité ou la qualité du produit fini.

- *Mode opératoire* : Une fiole vide est pesée (vide). Elle est ensuite additionnée d'éthanol 96% jusqu'au trait de jauge et est pesée à nouveau (matière). L'alcool est remplacé par l'eau et la fiole est pesée une troisième fois (eau). La densité est calculée selon la formule suivante : $Densité = (Matière- vide) / (eau-vide)$
- *Norme* : 0.805 à 0.812.

Acidité ou alcalinité

L'acidité d'une substance est révélée par un indicateur coloré dont le virage de la couleur initiale détermine l'acidité ou l'alcalinité de la solution.

- *Préparation des solutions*

Solution 1 : Pour obtenir une eau exempte de dioxyde de carbone (CO₂), il faut porter à ébullition de l'eau purifiée pendant quelques minutes, puis laisser refroidir et conserver à l'abri de l'air.

Solution 2 : Pour la solution de phénolphthaléine, 0.1g de phénolphthaléine est dissout dans 80ml d'éthanol à 96% en complétant le volume à 100ml avec de l'eau purifiée.

- *Mode opératoire* : Le test se fait en mélangeant 20 ml de la solution 1, 0,1 ml de la solution 2 avec 20 ml d'éthanol et 1,0 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,01 M.
- *Norme* : Le virage de couleur vers le rose (30 ppm, exprimé en acide acétique).

Spectrophotométrie Ultra-Violet / Visible

C'est une méthode analytique à la fois quantitative et qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique (donnée en solution) dans le domaine ultraviolet (UV), allant de 185 à 380 nm environ, et visible (VIS), allant de 380 à 800 nm. Elle est basée sur la loi de Beer-Lambert qui indique que l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration et à l'épaisseur de l'échantillon (Ben Bouabdellah and Saidi, 2017).

Cette identification est effectuée en examinant l'éthanol à 96% de 235nm à 340 nm sous une épaisseur de 5 cm et en utilisant l'eau purifiée comme témoin. Un flux lumineux d'une intensité I_0 traverse les solutions, et va être absorbée par un électron à l'état fondamental pour provoquer une transition électronique et donc s'élever à un niveau d'énergie supérieur, l'état excité (Nafti, 2008). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution comme : $A = \log (I_0/I)$



Figure 11 UV/Vis de la marque SHIMADZU

- *Norme* : < 0.4 à 240 nm, 0.30 de 250 nm à 260 nm et 0.1 de 270 nm à 340 nm.

4.1.1.2.3- Méthylparaben (Hydroxybenzoate de méthyle $C_8H_8O_3$)

✚ Caractères

L'aspect de l'Hydroxybenzoate de méthyle est vérifié à l'œil nu. Sa solubilité est étudiée dans différents solvants organiques tels que, l'eau, l'éthanol à 96% et le méthanol.

✚ Identification

Point de fusion

La détermination du point de fusion d'une espèce chimique permet de vérifier l'absence de substances étrangères. Elle est basée sur la détermination de la température exprimée en degré Celsius à laquelle la phase solide et la phase liquide sont en équilibre (Pradeau, 1992).

- *Mode opératoire* : Le tube capillaire à point de fusion est introduit dans un flacon contenant le méthylparaben à l'état solide pour remplissage jusqu'à environ 4mm de sa hauteur. Le tube est introduit dans le fusiomètre en augmentant progressivement la température. L'expression des résultats consiste à la détermination de la T° à laquelle le méthylparaben passe de l'état solide à l'état liquide c'est-à-dire la T° de début de fusion.
- *Norme* : 125 °C à 128 °C.

Spectrophotométrie IR

Ce test est réalisé de la même manière abordée dans la section « voir 4.1.1.1 Contrôle du principe actif : identification ».

- *Norme* : comparaison avec spectre de référence de Hydroxybenzoate de méthyle.

Essais

Aspect de la solution

- *Mode opératoire* : 1g de parahydroxybenzoate de méthyle est dissout dans l'éthanol à 96% R pour atteindre 10 ml de volume (solution S).
- *Norme* : Comparaison avec la solution témoin JB₆ (6ème dégradation de la couleur jaune brun) (annexe 7).

Acidité ou alcalinité

- *Mode opératoire* : 3ml d'éthanol à 96% R, 5ml d'eau exempte de CO₂ R et 0,1ml de solution de vert de bromocrésol R, sont ajoutés à 2 ml de solution S.
La détermination de l'acidité nécessite l'ajout de 0,1 ml de NaOH 0,1M.
- *Norme* : Le virage du couleur de la solution au bleu.

NB : La solution de vert de bromocrésol est préparée avec 0.1g de bromocrésol dissout dans 80ml d'éthanol à 96% et en complétant le volume à 100ml avec de l'eau purifiée.

Cendres sulfuriques

- *Mode opératoire* : le contrôle est effectué sur 1g de parahydroxybenzoate de méthyle et les étapes sont identiques à celles décrites dans la section « voir 4.1.1.1 Contrôle du principe actif : Essai ».
- *Norme* : maximum 0,1%.

4.1.1.2.4- Propylparaben (Hydroxybenzoate de propyle C₁₀H₁₂O₃)

Caractères

L'aspect du propylparaben est vérifié à l'œil nu. Sa solubilité dans différents solvants organiques (l'eau, l'éthanol à 96%, et le méthanol) est également étudiée.

Identification

Point de fusion

- *Mode opératoire* : ce test est réalisé selon les étapes de la section « voir la section 4.1.1.2.3 méthylparaben : identification ».
- *Norme* : 96 °C à 99 °C.

Spectrophotométrie IR

Voir section « 4.1.1.1 Contrôle du principe actif : identification ».

- *Norme* : comparaison du spectre obtenu avec le spectre de référence de Hydroxybenzoate de propyle.

✚ Essai

Aspect de la solution

- *Mode opératoire* : 1g de parahydroxybenzoate de propyle est dissout dans l'éthanol à 96% R et en complétant le volume à 10 ml avec le même solvant (solution S').
- *Norme* : L'aspect est comparé avec la solution témoin JB₆ (6ème dégradation du jaune brun) (annexe 7).

Acidité ou alcalinité

- *Mode opératoire* : 3ml d'éthanol à 96% R, 5ml d'eau exempte de CO₂ R et 0,1ml de solution de vert de bromocrésol R, sont ajoutés à 2 ml de solution S'. La détermination du milieu nécessite l'ajout de 0,1 ml de NaOH 0,1M.
- *Norme* : Le virage de la couleur de la solution au bleu.

Cendres sulfuriques

- *Mode opératoire* : Le test est réalisé sur 1g de parahydroxybenzoate de propyle et les étapes sont identiques à celles décrites dans la section « voir 4.1.1.1 Contrôle du principe actif : Essai ».
- *Norme* : maximum 0,1%.

4.1.1.2.5- Triéthanolamin ou trolamine (C₆H₁₅NO₃)

✚ Conservation

Le Nitrilotriéthanol se conserve dans un récipient étanche, à l'abri de la lumière.

✚ Caractères

L'aspect de trolamine est vérifié à l'œil nu. Sa solubilité est étudiée dans différents solvants organiques, tels que: l'eau, l'éthanol à 96% et le chlorure de méthylène.

✚ Identification

Réaction de coloration

- *Mode opératoire* : 0,3 ml de solution de sulfate de cuivre R est ajouté à 1 ml de trolamine ce qui développe une coloration bleue. Ainsi, 2,5 ml de solution diluée de NaOH R sont transférés à la solution précédente qui est portée à ébullition.
- *Norme* : Persistance de la coloration bleue.

✚ Essai

Aspect de la solution

- *Mode opératoire* : 12 g de trolamine sont dissouts dans l'eau R tout en complétant le volume à 20 ml avec le même solvant (solution S'').
- *Norme* : L'aspect est comparé avec la solution témoin B₆ (6ème dégradation du couleur brune) (annexe 7).

Densité

- *Mode opératoire* : les étapes de ce test sont les mêmes de celui de la section « voir 4.1.1.2.2 éthanol 96% : Essai ».
- *Norme* : 1.120 à 1.130.

Teneur en eau

Elle est déterminée par la méthode de Karl Fischer (KF) qui convient pour les échantillons ayant un taux élevé d'humidité. Cet appareil, présenté dans (la figure 12), a été développé à l'origine pour les liquides non aqueux mais on peut l'utiliser pour les solides solubles (Anonyme 13, 2011)



Figure 12 KF de la marque HTDS METTLER TOLEDO

- *Mode opératoire* : 1g de trolamine et 30ml de méthanol sont mélangés dans le bécher du Karl Fischer. L'appareil titre le mélange automatiquement et a affiché la teneur en eau instantanément.
- *Norme* : maximum 1%.

Cendres sulfuriques

Le protocole suivi pour déterminer les cendres sulfuriques de 1g de trolamine est le même que celui de la section « 4.1.1.1 Contrôle du principe actif : essai ».

- *Norme* : maximum 0.1%

4.1.1.2.6- L'huile essentielle de lavande

Caractères

L'aspect de l'huile essentielle de lavande est vérifié à l'œil nu.

Identification

Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une méthode de séparation physico-chimique qui repose sur les mécanismes d'adsorption, de partage ou d'échange d'ions ou sur des combinaisons de ces mécanismes. La séparation s'effectue par migration (développement) d'un soluté dans la phase mobile constituée d'un solvant, ou d'un mélange de solvants à travers la phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide en plastique ou d'aluminium, (Hadj Salem, 2009 ; Ph. Eur, 2014).

- *Préparation des solutions*

La solution à examiner est composée de 20µL d'huile dissoute dans 1ml de toluène R.

La solution témoin est composée de 10µL de linalole R, 10µL de cinéole et 10µL d'acétate de linalyle dissouts dans 1ml de toluène R.

- *Mode opératoire* :

Tableau4 Conditions chromatographiques pour CCM

Plaque	Une plaque au gel de silice pour CCM R (5-40µm) ou (2-10µm).
Phase mobile	Acétate d'éthyle R, toluène R (5 : 95 V/V).
Dépôt	10 µL (ou 2 µL) de solution à examiner et de solution témoin en bandes de 10 mm (ou 6 mm).
Développement	Sur un parcours de 10 cm (ou 8cm)
Séchage	A l'air

- *Détection* : la solution d'aldéhyde anisique R est pulvérisée sur la plaque qui est par la suite chauffée à 100-105 °C pendant 5-10 min. La plaque est examinée immédiatement à la lumière du jour.
- *Norme* : Les spots obtenus dans le chromatogramme sont comparés avec ceux de la solution témoin et la solution à examiner.

Essai

Densité

- *Mode opératoire* : les étapes de ce test sont les mêmes que celle de la section « voir 4.1.1.2.2 éthanol 96% : Essai ».
- *Norme* : de 0,878 à 0,892.

Indice d'acide

Pour déterminer l'indice des acides gras, une quantité de la substance à examiner (m_s) est dissoute dans un mélange de solvants (généralement des alcools) en présence d'indicateur coloré. Le titrage est effectué avec un réactif titrant (r) jusqu'au virage de la couleur. L'indice d'acide est calculé selon la formule suivante :

$$IA = (5.611 * V(r)) / m_s$$

- *Mode opératoire* : 5g d'huile essentielle de lavande sont dissouts dans 50ml du mélange de solvants prescrit comme suit : Ethanol 96% et éther de pétrole (50:50, V/V) et 0.5ml de phénolphtaléine est ensuite ajouté. Le titrage est effectué par le KOH jusqu'à au virage de la couleur.
- *Norme* : maximum 1,0

4.1.2-Contrôle physico-chimique du produit fini

A la fin du processus de fabrication, le produit final de KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel, subi une série de tests pour l'évaluation de certaines qualités, à savoir l'aspect, l'uniformité de masse, l'uniformité de teneur en PA, ainsi que le dosage du PA et les substances apparentées. Le contrôle est fait sur trois lots respectivement 9103, 9104, 9105.

4.1.2.1- Aspect

Le caractère du gel est examiné visuellement pour vérifier qu'il est transparent, homogène, non gras, hydrophile avec odeur de lavande et d'alcool.

4.1.2.2- Identification

Ce test est réalisé par HPLC afin de confirmer que le temps de rétention du pic principal est compatible avec celui du standard.

4.1.2.3- PH

Le pH d'une solution est déterminé à l'aide d'un pH mètre (METTLER TOLEDO) et doit être compris entre **5.0** à **7.5**.

4.1.2.4- Contenu moyen ou Uniformité du contenu

Le principe consiste à peser, séparément et dans l'ordre, 10 tubes remplies et vides à l'aide de la balance analytique de très grande précision (environ au 1/1000 de gramme) pour déterminer leur contenu moyen par soustraction.

- *Norme* : Masse moyenne : **60 g ± 3% ou [58.2 g – 61.8 g]**
Masse individuelle : **60 g ± 5% [57 g – 63 g]**

4.1.2.5- Dosage du principe actif

Le dosage du principe actif (Dos) contenu dans le gel KETOPROFENE LDM[®] 2.5% (Tube de 60 g) est réalisé par HPLC avec une phase mobile, une solution standard et une solution essai. Ces dernières sont filtrées, introduites dans les vials puis placées dans le carrousel d'HPLC. Les conditions chromatographiques sont résumées dans le tableau 5.

Tableau 5 Conditions chromatographiques pour dosage.

Colonne	ODS ; 250*4.6mm ; 5 µm
Débit	2.0 ml/min
Longueur d'onde	254 nm
Volume d'injection	20 µm
Température	Ambiante (25°C)
Diluant	(Acétonitrile : solution acétate d'ammonium 0.5% m/v) (270 :550)

- *Mode opératoire*

La phase mobile est composée de 450 ml de la solution A + 550ml de la solution B. Le pH est ajusté à 5.9 avec l'acide nitrique 10% m/m.

- La solution A est un mélange de 400 ml de méthanol et 600 ml d'acétonitrile.

- La solution B est la dissolution de 0.5g d'acétate d'ammonium dans 100 ml d'eau purifiée.

La solution standard : est préparée avec 50 mg du Kétoprofène standard dissous dans 50ml de méthanol. 5ml de la solution précédente sont transférés dans 19ml de méthanol et le volume est complété à 100ml avec le diluant.

La solution essai : 400mg du gel est agité avec 50 ml de méthanol pendant 15 min, puis 25ml de surnageant est dilué dans 100ml de diluant.

- Le pourcentage du ketoprofène est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Ketoprofène\%} = \frac{Ae}{As} \times \frac{Cs}{Ce} \times \frac{ts}{100} \times \frac{100-LOD}{100} \times \frac{100}{2.5} \times 100$$

Où:

Ae : Aire moyenne du pic de kétoprofène dans la solution Essai

As : Aire moyenne du pic de kétoprofène dans la solution standard

Cs : Concentration de la solution standard

Ce : Concentration de la solution essai

Ts : Teneur du standard (%)

- *Norme :* La teneur de Ketoprofène doit être dans l'intervalle [92.5 % - 107.5 %]

4.1.2.6- Substances apparentées

Les substances apparentées (Sub App) du principe actif présentes dans le gel du KETOPROFENE LDM[®] 2.5%, sont indiquées par HPLC dont les détails sont indiqués dans le tableau 6.

Tableau 6 Conditions chromatographiques pour substances apparentées.

Phase mobile	Acétonitrile : eau purifiée : tampon phosphate pH 3.5 (40 :58 :2)
Colonne	Supelco discovery C18 ;(125*4.0) mm; 5um
Débit	1.0 ml/min
Longueur d'onde	233 nm
Volume d'injection	10 µl
Température	Ambiante (25°C)

- *Mode opératoire*

La solution tampon : 68g de phosphate monopotassique est dissous dans 1000ml d'eau purifiée. Le pH est ajusté à 3.5 avec de l'acide phosphorique.

La solution standard : composée de 20 ml d'acétonitrile ajoutés à 12.5mg de Ketoprofène standard, 0.34mg de méthylparaben et 0.16mg de propylparaben. Le mélange est mis dans le bain ultrason pendant 5 min pour le dissoudre complètement. Le volume de 50ml est complété avec de l'acétonitrile. La solution préparée est filtrée à travers un filtre 0.45µm.

La solution essai, composée de 0.5g du gel (mélange de 10 tubes) transféré dans une fiole de 50ml d'acétonitrile. La fiole est mise dans le bain ultrason pendant 15min pour dissoudre le gel. Le surnageant est filtré et analysé par HPLC.

- *Conformité du système*: RSD ≤ 2%

Les pics qui correspondent au solvant sont éliminés et le pourcentage de chaque impureté est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de chaque impureté}\% = \frac{r_i}{r_s} \times 100$$

Avec :

r_i : aire du pic de chaque impureté

r_s : la somme des aires de tous les pics

- *Norme* : Les impuretés individuelles ≤ **0.1 %**

Total des impuretés ≤ **1.0%**

4.2- Contrôle microbiologique du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel

Dans le but de faciliter le contrôle microbiologique, d'assurer une bonne qualité hygiénique, et d'éviter le risque de contaminations microbiennes, les pharmacopées ont préconisé des protocoles d'analyse destinés aux matières premières et produits finis et adaptés à différents types de médicaments. Dans le cas du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel, les pharmacopées recommandent d'effectuer un dénombrement microbien ainsi que la recherche des micro-organismes spécifiés.

4.2.1-Contrôle microbiologique de la matière première

Contrairement au contrôle physico-chimique de la matière première, le contrôle microbiologique est effectué exclusivement sur le PA « kétoprofène ». Ainsi, tous les excipients du produit KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel sont exemptés de ce contrôle du fait de leur nature aisément inflammable.

4.2.1.1- Contrôle du principe actif : Acide benzoylphényl propanoïque

4.2.1.1.1- Préparation de la solution mère de l'échantillon

L'analyse microbiologique du PA nécessite la préparation d'une solution mère de l'échantillon par dissolution de 10g de poudre de l'Acide benzoylphényl propanoïque obtenus aseptiquement dans 90 ml du tampon peptoné au chlorure de sodium (TSE) (annexe 2) avec 0.5% de tween (pH=7). Le rapport de dilution obtenu est de l'ordre de 1/10. La solution, homogénéisée soigneusement au vortex pendant 30 secondes, sera utilisé pour le dénombrement des germes aérobies mésophiles viables totaux (DGAT), dénombrement de moisissures et levures (DMLT) ainsi que la recherche d'*Escherichia coli*.

4.2.1.1.2- Dénombrement microbien

Le dénombrement sur milieu gélosé des bactéries viables et susceptibles de se proliférer dans un échantillon donné est effectué selon deux techniques, l'étalement en surface et celle de l'ensemencement en profondeur (Prescott *et al.*, 2010).

Dans ce travail, la technique utilisée est celle de l'ensemencement en profondeur.

A- Dénombrement des Germes Aérobie Viables Totaux (DGAT)

Il s'agit du dénombrement de bactéries aérobies mésophiles, viables et revivifiables (Gazengel and Orecchioni, 2009). Le principe consiste à préparer une série de dilutions décimales à partir de la solution mère et à ensemencer en profondeur 1ml de chaque dilution sur un milieu gélosé à la peptone de caséine et de soja (TSA) (annexe 2) avant solidification. Un témoin négatif est préparé à partir de gélose non ensemencée.

Les boîtes sont mélangées soigneusement en effectuant des mouvements en forme de « C » et de « 8 ». L'incubation des boîtes retournées est faite à 33°C pendant 3-5 jours et les éléments comptés sont exprimés en UFC/g

- *Norme* : $< 10^2$ UFC/g

B- Dénombrement des Levures et Moisissures (DMLT)

L'exposition aux moisissures peut causer des effets immunosuppresseurs chez l'homme permettant ainsi l'apparition de multiples infections. D'autant plus que leur caractère ubiquiste et la sporulation leur permettent de résister aux conditions environnementales défavorables (Anonyme 4, 2000 ; Ainsworth et *al.*, 2001 ; Develoux and Bretagne, 2014).

Le dénombrement est effectué sur milieu Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (annexe 2) et la lecture se fait après 5-7 jours d'incubation à 23°C.

- *Norme*: $< 10^1$ UFC/g

4.2.1.1.3- Recherche des microorganismes spécifiés

Ces essais permettent de contrôler l'absence ou la présence limitée de microorganismes spécifiés pouvant réduire le taux d'efficacité des principes actifs et provoquer des problèmes de santé.

A- *Escherichia coli*

Bien qu'elle constitue 80 % de notre flore intestinale, cette entérobactérie Gram négatif peut parfois provoquer diverses infections (Ghorri, 2019).

- *Mode opératoire*

Préparation des échantillons et pré-incubation : le volume de 10 ml de la solution mère de l'échantillon préparé précédemment sont inoculés dans 100 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (TSB) (annexe 2). Après homogénéisation, le flacon (1) est incubé à 33°C pendant 24h.

Sélection et subculture : 1ml du contenu du flacon (1) est inoculé dans 100 ml de milieu liquide de MacConkey (MCB) (annexe 2) et pré-incubé à 43°C pendant 48h. L'échantillon pré incubé est repiqué sur milieu gélosé de MacConkey (MCA) (annexe 2) et incubé à 33°C pendant 72h, les boîtes sont retournées en plus du témoin négatif.

- *Norme*: Absence/g

B- Salmonella

Les entérobactéries du genre *Salmonella* provoquent chez l'homme des fièvres typhoïdes et des toxi-infections alimentaires collectives aux salmonelles (Bornert, 2000).

- *Mode opératoire:*

Préparation de l'échantillon pour Salmonelle : l'échantillon est préparé selon la méthode décrite dans la partie « 4.2.1.1.1- préparation de la solution mère de l'échantillon » en utilisant le milieu TSB+0.1% Tween 80 comme diluant. L'échantillon est incubé à 33°C pendant 24 heures.

Sélection et subculture : 0.1ml du bouillon TSB est inoculé dans 10ml de RVB (milieu liquide Rappaport-Vassiliadis) (annexe 2) et est incubé à 33°C pendant 24 heures.

Après incubation, l'inoculât estensemencée sur gélose XLD (Xylose-Lysine-désoxycholate) (annexe 2) et les boîtes sont retournées et incubées à 33°C pendant 48 heures, toujours avec la préparation d'un témoin négatif.

- *Norme:* Absence/10g

4.2.2-Contrôle microbiologique du produit fini

Le contrôle microbiologique du produit fini consiste en un dénombrement des germes aérobies totaux et la vérification de l'absence de germes spécifiés dans l'échantillon.

4.2.2.1- Préparation de la solution mère de l'échantillon

La solution mère est obtenue selon la méthode employée lors de la préparation de l'échantillon du principe actif, en substituant le principe actif par 10g du gel KETOPROFENE LDM[®] 2.5%. Le dénombrement DGAT, DMLT, ainsi que la recherche d'*Escherichia coli* et *Salmonella* sont effectuées selon les mêmes protocoles utilisés pour l'analyse microbiologique du principe actif kétoprofène : Acide benzoylphényl propanoïque « 4.2.1.1-contrôle du principe actif ».

4.2.2.2- Recherche des microorganismes spécifiés

4.2.2.2.1- Entérobactéria et bactéries Gram-négatives résistants aux sels biliaries

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, majoritairement présentes au niveau du tube digestif, de la cavité buccale, des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux des animaux et des humains. Ils sont de ce fait indicateurs de contamination fécale (Joly and Reynaud 2007 ; avril *et al.*, 1999).

- *Mode opératoire :*

Préparation de l'échantillon et pré-incubation

L'équivalent à la dilution 1/10 de l'échantillon est préparé comme décrit précédemment dans la partie « 4.2.2.1 : *préparation de la solution mère de l'échantillon* » mais en substituant le diluant par une solution de peptones de caséine et de soja TSB à 0.1% de Tween 80. L'incubation se fait à 23°C pendant un temps suffisant pour assurer la revivification des bactéries, mais insuffisant pour permettre leur prolifération (généralement 2 à 5 heures).

Une série de dilutions décimales allant jusqu'à la 10^{-4} est préparée, en transférant 10ml de la solution mère dans 90ml de diluant (TSB+0.1% Tween 80).

❖ **Absence d'entérobactéries**

✓ **Sélection et subculture**

- Le volume de 10ml de l'échantillon est préparé à partir de 1g de produit puis inoculé dans 100ml du milieu d'enrichissement pour les entérobactéries (EE-Mossel) (annexe 2).
- Après 48h d'incubation à 33°C, un ensemencement est effectué sur gélose VRBG (Bile-violet-rouge avec glucose) (annexe 2).
- La lecture est réalisée après 24h d'incubation à 33°C.

❖ **Essai quantitatif**

✓ **Sélection et subculture**

- Un volume de 10ml de chaque dilution (1/10, 1/100 et 1/1000) est ensemencé dans 100ml du milieu d'enrichissement pour les entérobactéries (EE-Mossel).
- Après 48h d'incubation à 25°C, un ensemencement est effectué sur gélose VRBG
- Un repiquage de chacune des cultures est fait sur milieu VRBG.
- La lecture est réalisée après 24h d'incubation à 30°C.
- *Norme:* $< 10^1$ UFC/g

4.2.2.2.2- *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, groupés en amas. Ces bactéries ubiquitaires, commensales de la peau et des muqueuses de l'homme (Clotilde, 2015 ; Bergon, 2016). Elles sont à l'origine d'infections cutané-muqueuses comme des folliculites, panaris, impétigos, ou des infections invasives comme les dermo-hypodermes nécrosantes, bactériémies ou infections ostéo-articulaires (Bergon, 2016).

- *Mode opératoire*

Préparation de l'échantillon et pré-incubation

10 ml de la solution mère « 4.2.2.1 : préparation de la solution mère de l'échantillon » sont ensemencés dans 100ml du bouillon TSB

L'incubation se fait à 33°C pendant 24 heures.

Sélection et subculture

Un repiquage sur gélose Chapman (annexe 2) est réalisé. L'incubation des boîtes ensemencées et le témoin négatif est effectuée pendant 72 heures à 33°C.

- *Norme* : Absence/g

4.2.2.2.3- *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est un bacille Gram négatif aérobie stricte saprophyte des cavités naturelles de l'homme mais qui peut devenir un pathogène opportuniste chez les patients fragilisés (Montalegre, 2016).

- *Mode opératoire* :

Préparation de l'échantillon et pré-incubation

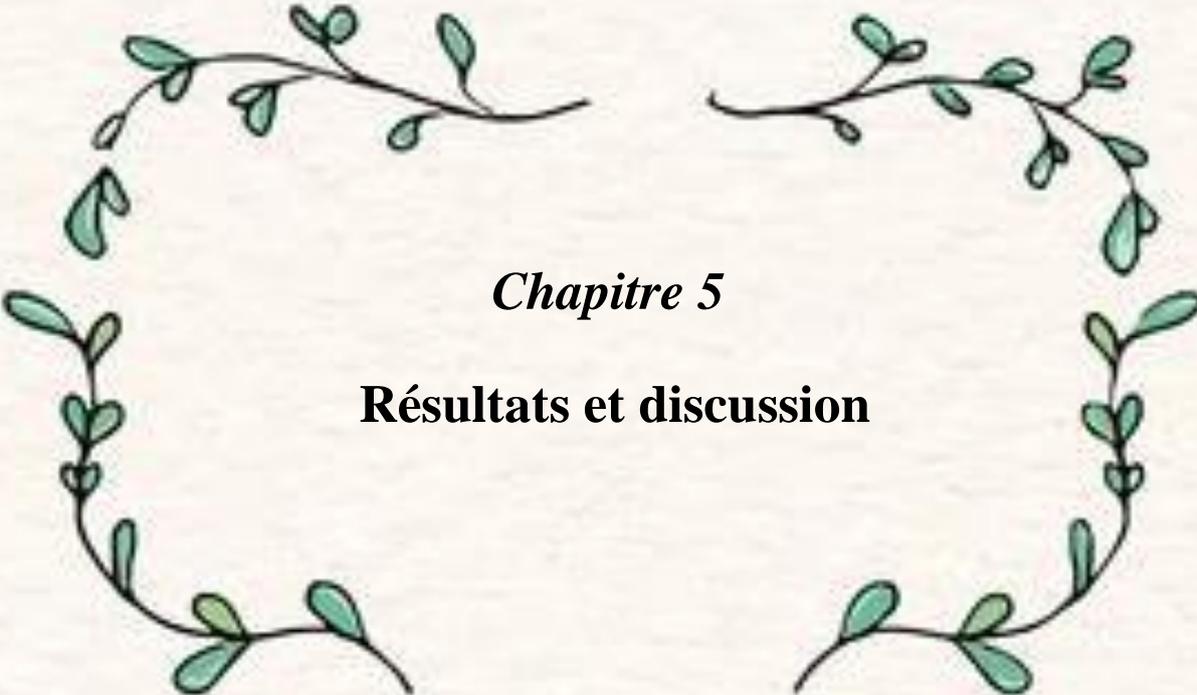
10 ml de la dilution « 4.2.2.1 : préparation de la solution mère de l'échantillon » sont ensemencés dans 100ml du bouillon TSB

- L'incubation se fait à 33°C pendant 24 heures.

Sélection et subculture

Un repiquage sur gélose Cétrimide (annexe 2) est effectué. L'incubation des boîtes ensemencées et le témoin négatif est effectuée pendant 72 heures à 33°C

- *Norme*: Absence/g



Chapitre 5

Résultats et discussion

5- Résultats et discussion

5.1- Contrôle physico-chimique du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel

Dans ce chapitre sont présentés les résultats obtenus lors du contrôle qualité du produit afin de déterminer sa conformité par rapport aux normes de la pharmacopée européenne 9ème édition.

PS : à cause de la pandémie de covid-19, nous n'avons pas pu continuer le stage et donc il y avait un manque dans nos résultats.

5.1.1-Contrôle physico-chimique de la matière première

5.1.1.1- Contrôle du principe actif

Les résultats de l'analyse physico-chimiques du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel (PA) sont regroupés dans le tableau 7.

Tableau 7 Résultats du contrôle physico-chimique du PA.

	Test	Norme	Résultats
Caractères	Aspect	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche	Poudre cristalline, blanche.
	Solubilité	Pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, dans l'éthanol à 96% et dans le chlorure de méthylène.	Conforme.
Identification	IR	Le spectre de kétoprofène est comparé avec celui de kétoprofène <i>SCR</i>	Les deux spectres sont identiques
Essai	Aspect de la solution	La solution est limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin J ₆	Conforme
	Perte à la dessiccation	≤ 0.5%	0.13%
	Cendres sulfuriques	≤ 0.1%	0.02%
	Dosage par potentiométrie	[99% - 100.5%]	100.17%
	Substances apparentées		
	Impureté A	≤ 0.20%	< 0.20%
	Impureté B	≤ 0.20%	< 0.20%
	Impureté C	≤ 0.20%	< 0.20%
	Impureté D	≤ 0.20%	< 0.20%
Impureté E	≤ 0.20%	< 0.20%	
Impureté F	≤ 0.20%	< 0.20%	
Impuretés inconnues	≤ 0.10%	ND	
Sommes des Impuretés (B.D.E.F)	≤ 0.40%	< 0.40%	

5.1.1.2- Contrôle des excipients

Les excipients sont analysés pour déterminer leur conformité par rapport aux normes de la Ph. Eur 9ème édition. Les tableaux 8, 9, 10, 11 et 12 présentent, respectivement, les résultats d'analyses effectuées sur le carbomère 980, l'éthanol 96%, parahydroxybenzoate de méthyle et du parahydroxybenzoate de propyle, la triéthanolamine et enfin l'huile essentielle de lavande.

Tableau 8 Résultats du contrôle physico-chimique du carbomère 980.

Test		Norme	Résultat
Caractères	Aspect	Poudre hygroscopique, blanche ou sensiblement blanche, aérée.	Poudre hygroscopique, blanche et aérée.
	Solubilité	Gonfle au contact de l'eau après dispersion et neutralisation avec une solution de NaOH.	Conforme
Identification	IR	Le spectre IR du carbomère est comparé avec celui du carbomère SCR	Similarité des spectres
Essais	Perte à la dessiccation	< 3.0%.	Conforme
	Cendres sulfuriques	< 4.0%.	Conforme

Tableau 9 Résultats de contrôle physico-chimique de l'éthanol 96%.

Test		Norme	Résultat
Caractères	Aspect	Liquide incolore, limpide, volatil et inflammable, hygroscopique.	Conforme
	Solubilité	Miscible à l'eau et au chlorure de méthylène. Brûle avec une flamme bleue, sans fumée.	Conforme
Identification	IR	Le spectre IR de l'éthanol est comparé avec celui de l'éthanol SCR	Similarité des spectres
Essai	Aspect de la solution	Limpide et incolore en comparant avec l'eau R	Conforme
	Densité	[0.805 – 0.812]	Conforme
	Acidité	Virage du couleur vers le rose	Conforme
	UV / Vis	< 0.4 à 240nm 0.3 à [250nm – 260nm] 0.1 à [270nm – 340nm]	Conforme

Tableau 10 Résultats du contrôle physico-chimique de méthylparaben et propylparaben.

	Test	Excipient	Norme	Résultat
Caractères	Aspect	Méthylparaben et Propylparaben	Poudre cristalline et blanche.	Conforme
	Solubilité	Méthylparaben et Propylparaben	Très peu soluble dans l'eau Facilement soluble dans l'éthanol 96% et dans le méthanol	Conforme
Identification	Point de fusion	Méthylparaben	[125° - 128°]	Conforme
		Propylparaben	[96°C- 99°C]	
	IR	Méthylparaben et Propylparaben	Les spectres IR relatifs aux deux composés présentent des allures similaires avec celui de la substance chimique de références <i>SCR</i> (parahydroxybenzoate de méthyle <i>SCR</i>)	Conforme
Essai	Aspect de la solution	Méthylparaben et Propylparaben	La solution est limpide et n'est pas plus fortement coloré que la solution témoin JB ₆	Conforme
	Acidité	Méthylparaben et Propylparaben	Virage du couleur vers le bleu	Conforme
	Cendres sulfuriques	Méthylparaben et Propylparaben	≤ 0.1 %	Conforme

Tableau 11 Résultats de contrôle physico-chimique de Triéthanolamine.

	Test	Norme	Résultat
Caractères	Aspect	Liquide limpide, visqueux, incolore, très hygroscopique.	Conforme
	Solubilité	Miscible à l'eau et à l'éthanol à 96% Soluble dans le chlorure de méthylène.	
Identification	Réaction de coloration	Persistance de la coloration bleue	Conforme
Essai	Aspect de la solution	Solution (S'') est limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin B ₆	Conforme
	Densité	[1.120 - 1.130]	
	Teneur en eau	< 1%	
	Cendres sulfuriques	< 0.1%	

Tableau 12 Résultats de contrôle physico-chimique de l'huile essentielle de lavande.

Test		Norme	Résultat
Caractères	Aspect	Liquide limpide, incolore	Conforme
Identification	CCM	Les spots obtenus dans le chromatogramme sont comparés avec ceux de la solution témoin et la solution à examiner.	Conforme
Essai	Densité	[0.878 – 0.892]	Conforme
	Indice d'acide	< 1	

Interprétation globale des résultats

Aspect et solubilité

Les caractéristiques macroscopiques, dont l'aspect et la solubilité, de la matière première (PA, excipients) correspondent aux normes de la Pharmacopée Européenne 2019 et confirment la pureté de chaque matière étudiée.

Identification par IR

La spectrophotométrie infrarouge révèle que les spectres relatifs à chaque substance présentent des allures similaires à ceux des substances chimiques de référence *SCR* respectives.

Point de fusion

D'après le tableau 10 les T° à laquelle le méthylparaben et le propylparaben passent de l'état solide à l'état liquide (c'est-à-dire la T° de début de fusion) se situent respectivement dans les intervalles [125° - 128°], [96°C- 99°C]. Cela signifie que le parahydroxybenzoate de méthyle et de propyle sont purs.

Aspect de la solution

Les tableaux (7, 9, 10, 11) montrent que les solutions préparées sont limpides et leurs colorations ne sont pas plus intenses que celles des solutions témoins respectives (J₆, eau R, JB₆ et B₆). L'ensemble de ces résultats indique l'absence d'impuretés insolubles ou colorées.

Perte à la dessiccation

L'étude de la perte à la dessiccation permet d'étudier les conditions d'élimination de la totalité d'eau libre, sans toucher à la structure fine de la matière, nos résultats obtenus pour le PA et le carbomère 980 sont inférieurs aux limites recommandées par la Ph. Eur 2019 et témoignent d'une bonne déshydratation.

Cendres sulfuriques

D'après les tableaux (7, 8, 10, 11), les taux des cendres sulfuriques sont inférieurs aux normes prescrites par la Ph. Eur, ce qui affirme l'absence des impuretés inorganiques.

Densité

La densité de l'huile essentielle de lavande et de l'éthanol à 96% se situe dans l'intervalle exigé par la Pharmacopée Européenne 9^{ème} édition.

Acidité / alcalinité

Le virage de la couleur des solutions d'éthanol 96%, le méthylparaben et le propylparaben vers le rose et le bleu, respectivement révèle leur acidité et confirme leur pureté.

Substances apparentées

En ce qui concerne les substances apparentées dans le PA et d'après les chromatogrammes obtenus on peut déduire que :

- ✓ La valeur de l'aire du pic principal du chromatogramme obtenu de l'impureté A (annexe 6) avec la solution témoin (b) est $<0.2\%$, conformément à la norme ($\leq 0.2\%$).
- ✓ Pour chaque impureté B, D, E, F (annexe 6), l'aire du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) est $<0.2\%$ et donc conforme à la norme ($\leq 0.2\%$).
- ✓ L'aire du pic principal du chromatogramme obtenu de l'impureté A avec la solution témoin (c) est $<0.2\%$, conforme à la norme.
- ✓ Les impuretés inconnues n'ont pas été détectées, ce qui signifie qu'il n'y a pas eu de dégradation du principe actif.

Dosage par potentiométrie

Le pourcentage du principe actif se trouve dans l'intervalle exigé, ce qui indique que le dosage est conforme et n'affecte pas le produit fini.

Réaction de coloration

D'après le tableau 11, l'ajout de la solution diluée du NaOH ne change rien à la solution, ce qui signifie que le trolamine ne réagit pas avec le NaOH, et donc l'absence d'un autre produit dans le milieu. Ces résultats indiquent la présence de triéthanolmine et affirme sa conformité.

Chromatographie sur couche mince (CCM)

D'après le tableau 12, les rapports frontaux des spots obtenus dans le chromatogramme de la solution à examiner correspondent à celui du témoin, cela affirme la conformité de l'huile de lavande.

Identification par UV

En calculant l'absorbance (A) nous pouvons conclure qu'elle se trouve dans les intervalles exigés. Donc l'absorbance de l'éthanol est nettement acceptable.

Teneur en eau

Le résultat du tableau 9 montrent que la teneur en eau est comprise dans l'intervalle décrit par la Pharmacopée Européenne 9^{ème} édition. D'après ces résultats, le nitrilotriéthanol est conforme aux normes d'acceptation et destiné à la fabrication.

Indice d'acide

Concernant l'indice d'acide, le taux des acides gras présents dans l'huile essentiel de lavande est < 1 .

- ✓ Nos résultats expérimentaux révèlent que la matière première qui entre dans la préparation du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel est d'une qualité satisfaisante et répond aux normes de la Pharmacopée Européenne 9^{ème} édition.

5.1.2-Contrôle physico-chimique du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel Tube de 60 g (produit fini)

5.1.2.1- Aspect

Le résultat de l'aspect de KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel, présenté dans le tableau 13, indique que l'aspect du gel répond aux exigences de la pharmacopée européenne 9^{ème} édition.

Tableau13 Résultats d'aspect de KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel.

Test	Norme	Résultat
Aspect	Transparent, homogène, non gras, hydrophile avec odeur de lavande et d'alcool.	Conforme

5.1.2.2- Identification par HPLC

Les résultats de l'identification du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel de 3 lots différents, illustrés dans le tableau 14 indiquent que le temps de rétention du pic principal de l'essai est compatible avec celui du standard pour les 3 lots, ce qui confirme l'identité du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel et sa conformité par rapport aux normes de la Pharmacopée Européenne 9^{ème} édition (annexe 5).

Tableau14 Identification de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel.

Test	N° de lot	Norme	Résultats
Identification	9103	Identique ou proche du temps de rétention de la solution standard (5.528 min)	5.481 min
	9104		5.481 min
	9105		5.480 min

5.1.2.3- pH

Le pH de 3 lots différents (tableau 15) présente des valeurs acceptables car en concordance avec la norme décrite par la pharmacopée européenne 2019.

Tableau15 Résultats de pH de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel.

Test	N° de lot	Norme	Résultats
pH	9103	[5.0 – 7.5]	5.97
	9104		5.99
	9105		5.95

5.1.2.4- Contenu moyen / Uniformité de masse

Les résultats obtenus concernant l'uniformité de masse sont illustrés dans le tableau 16. Ces résultats ont été obtenus après avoir pesé 10 tubes de chaque lot et montrent que la masse moyenne des tubes testés est homogène et donc est conforme à la norme prescrite par la Pharmacopée Européenne 2019 (annexe 5).

Tableau16 Résultats d'uniformité de masse de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel.

Test	N° de lot	Norme	Résultat
Uniformité de masse	9103	60 g ± 3% [58.2 g – 61.8 g]	59.64 g
	9104		59.53 g
	9105		60.11 g

5.1.2.5- Dosage

Les chromatogrammes obtenus du dosage du principe actif à partir de tubes de kétoprofène prélevés de 3 lots différents sont présentés dans les figures 13-16 et les résultats du dosage sont résumés dans le tableau 17 (annexe 5).

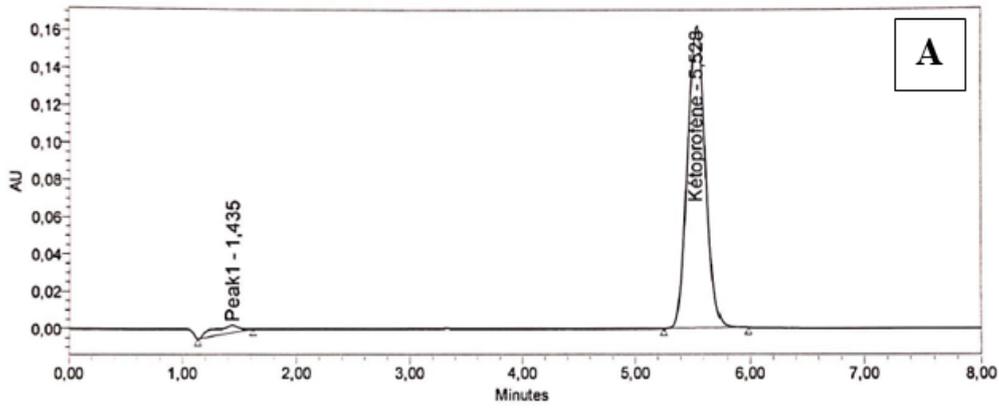


Figure 13 Pic principal de la solution standard Dos avec temps de rétention.

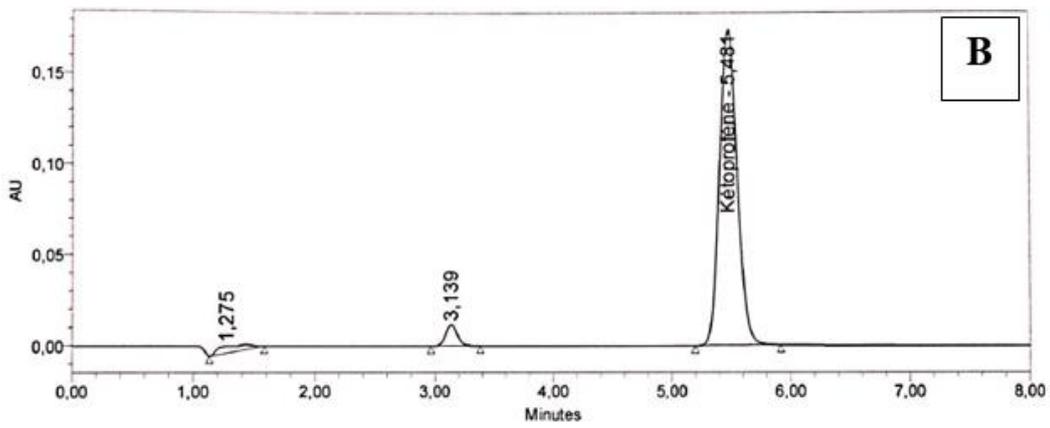


Figure 14 Pic de la solution essai Dos du lot 9103 avec temps de rétention.

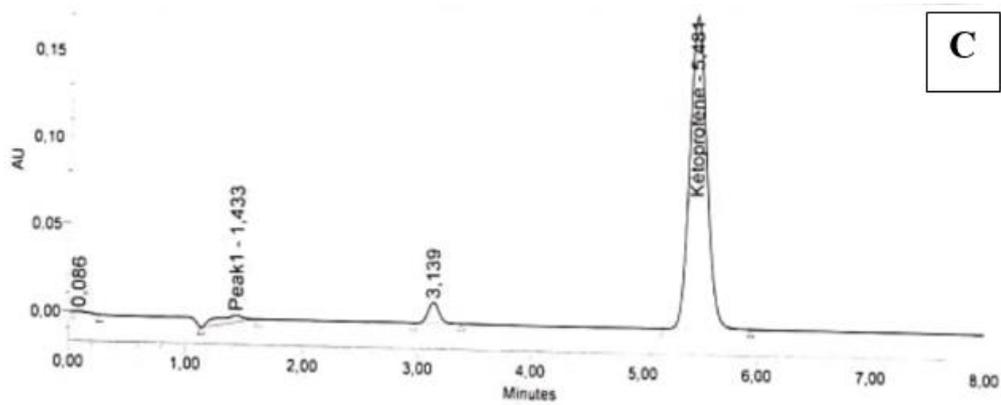


Figure 15 Pic de la solution essai Dos du lot 9104 avec temps de rétention.

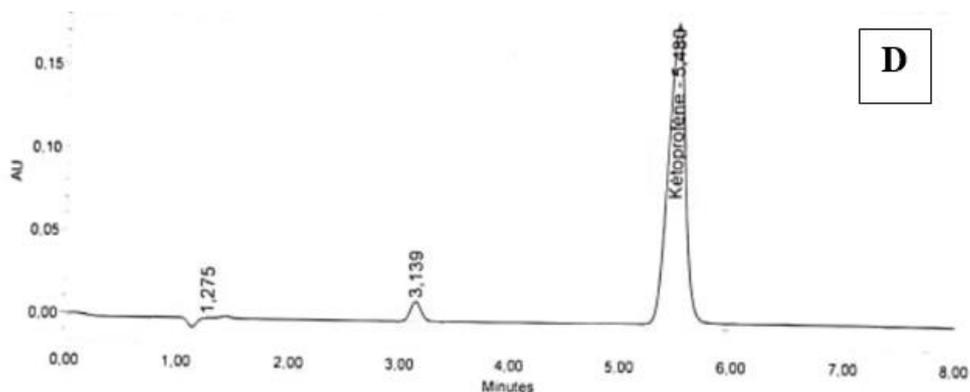


Figure 16 Pic de la solution essai Dos du lot 9105 avec temps de rétention.

Tableau17 Résultats de dosage de KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel.

N° de lot	Résultat	Norme
9103	RSD: 0.1 %	≤ 2%
	Temps de rétention: 5.481 min	Identique ou proche du TR du standard (5.528 min)
	Le pourcentage de kétoprofène: 96.54%	[92.5 % - 107.5 %]
9104	RSD: 0.1 %	≤ 2%
	Temps de rétention: 5.481 min	Identique ou proche du TR du standard (5.528 min)
	Le pourcentage de kétoprofène: 102.53%	[92.5 % - 107.5 %]
9105	RSD: 0.1 %	≤ 2%
	Temps de rétention: 5.480 min	Identique ou proche du TR du standard (5.528 min)
	Le pourcentage de kétoprofène: 99.97%	[92.5 % - 107.5 %]

- La valeur de l'écart-type relatif (RSD : *Relative Standard Deviation*) correspond aux normes de la pharmacopée et cela signifie que le système d'HPLC est conforme.
- Les temps de rétention des solutions essais sont proches de celle de la solution standard (figures A, B, C, D) (5.528 min pour le standard, 5.481 min, 5.481 min, 5.480 min pour les solutions essais respectivement), ce qui confirme l'identité du principe actif.
- Selon les résultats obtenus, la teneur du PA de l'échantillon se trouve dans les limites de concentration exigées par la Ph.Eur 2019 pour obtenir l'effet thérapeutique escompté.

5.1.2.6- Substances apparentées

Les résultats du dosage des substances apparentées du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel sont résumés dans le tableau18 et dans l'annexe 5.

Tableau18 Dosage des substances apparentées de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel.

N° de lot	RSD	Temps de rétention	Impuretés inconnues	Σ Impuretés	%
9103	0.3 %	3.685 min	3840	3770668	0.10
9104		3.685 min	4119	3741976	0.11
9105		3.685 min	4214	3796237	0.11

D’après le tableau, le RSD est inférieur à 2% ce qui affirme la conformité du système HPLC. Le pourcentage de chaque impureté est calculé comme l’exemple (annexe 5) :

$$\text{Impureté \%} = \frac{3840}{3770668} \times 100 = 0.10$$

Le temps de rétention de la solution standard (3.673 min) est proche à celui des 3 solutions essais de KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel, ce qui confirme l’identité du principe actif. D’autant plus que les chromatogrammes présentés dans la figure 17 certifient l’absence d’impuretés inconnues ou de dégradation du principe actif.

En conséquence, ce médicament répond aux normes d’acceptation décrites par la pharmacopée européenne 9^{ème} édition et prêt à la commercialisation.

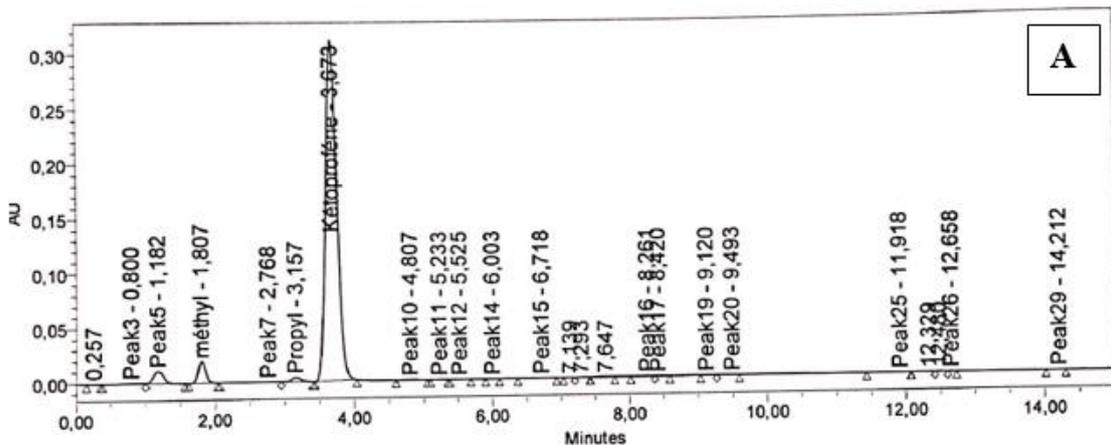


Figure 17 Pic principal de la solution standard Sub App.

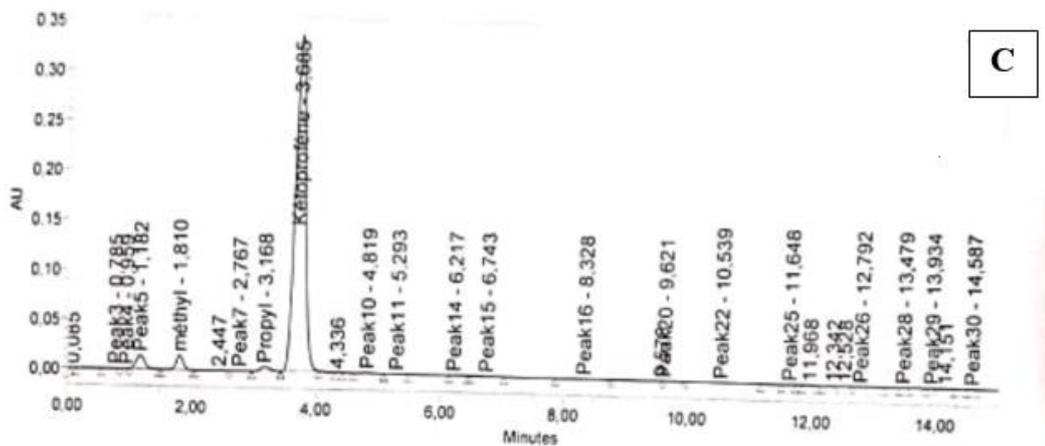


Figure 18 Pic de la solution essai Sub App du lot 9103.

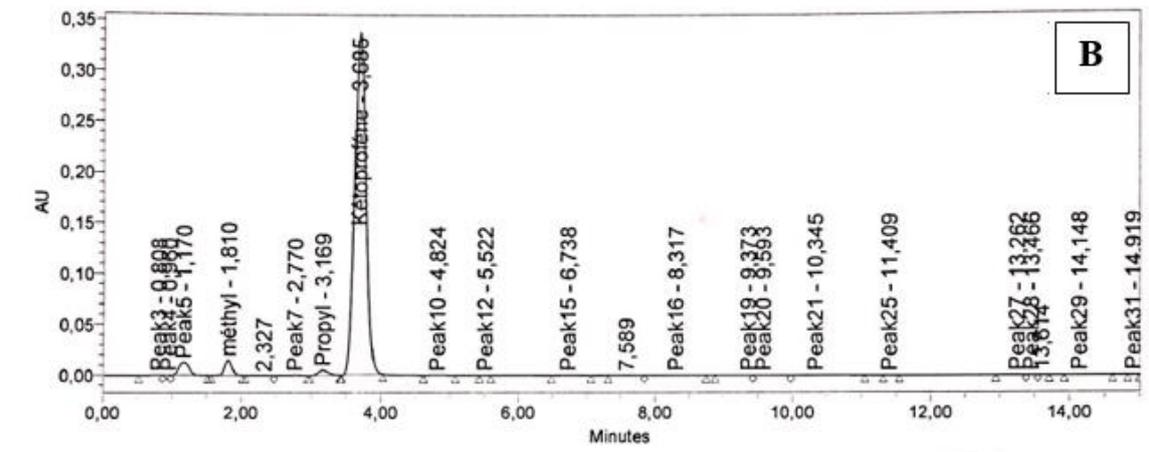


Figure 19 Pic de la solution essai Sub App du lot 9104.

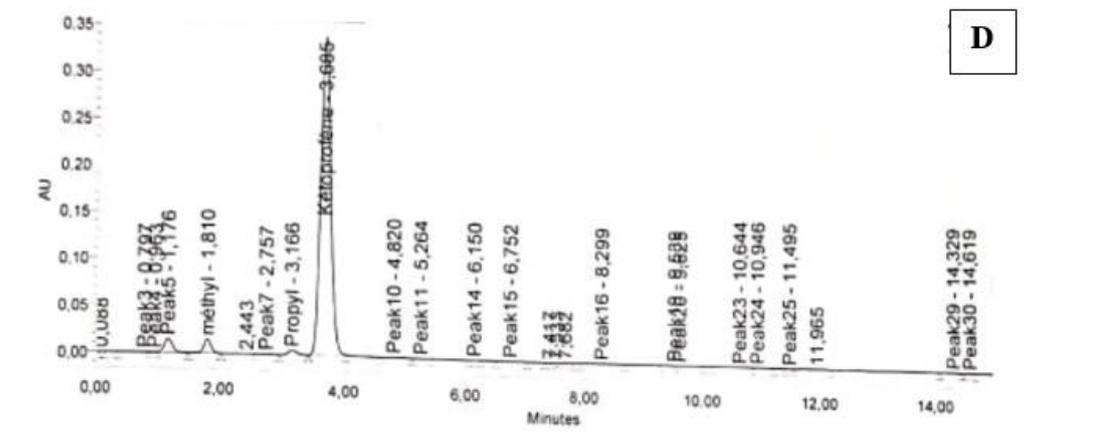


Figure 20 Pic de la solution essai Sub App du lot 9105.

5.2- Contrôle microbiologique du KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel

Le dénombrement des germes recherchés a été effectué par un calcul à l'aide du compteur de colonies ou par un examen visuel suivi d'une comparaison avec la référence normative de la pharmacopée européenne 2019. Les résultats obtenus sont exprimés en unité formant colonie par gramme de KETOPROFENE LDM® 2.5% (UFC/g).

5.2.1-Contrôle microbiologique de la matière première

5.2.1.1- Contrôle du principe actif

Les résultats du dénombrement des germes DGAT et DMLT dans l'Acide benzoylphényl propanoïque, résumés dans le tableau 19, expriment une absence totale des colonies sur le milieu TSA et le milieu SDA. L'absence totale des colonies rouges indique l'absence d'*Escherichia coli* et des Salmonelles dans l'Acide benzoylphényl propanoïque. Ainsi, le contrôle microbiologique relatif au principe actif de KETOPROFENE LDM® 2.5% présente des résultats conformes aux normes du fait de la stérilité du PA.

Tableau 19 Résultats du contrôle microbiologique de l'Acide benzoylephényl propanoïque.

Tests	Lecture	Normes
DGAT	Aucune colonie	$< 10^2$ UFC/g
DMLT	Aucune colonie	$< 10^1$ UFC/g
Recherche d'<i>Escherichia coli</i>	Aucune colonie	Absence /g
Recherche de <i>Salmonella</i>	Aucune colonie	Absence /10g

5.2.2-Contrôle microbiologique du produit fini

Les résultats de l'analyse microbiologique du produit fini KETOPROFENE LDM[®] 2,5% Gel, présentés ci-dessous, permettent de vérifier sa conformité. La stérilité du produit traduite par l'absence de contamination microbiologique signifie qu'il est conforme et de bonne qualité hygiénique.

5.2.2.1- Dénombrement microbien

Le dénombrement des germes DGAT et DMLT, effectué à l'œil nu (figures 21 et 22), indique une absence totale de colonies sur le milieu TSA et le milieu SDA.

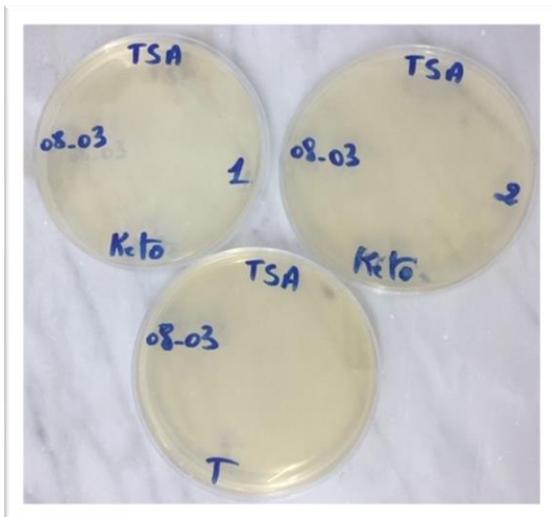


Figure 21 Cultures sur le milieu TSA.

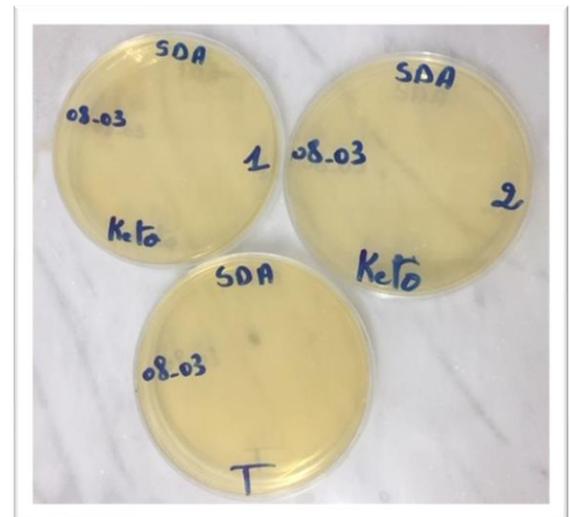


Figure 22 Cultures sur le milieu SDA.

5.2.2.2- Recherche des microorganismes spécifiés

L'absence de colonies bien développées dans le milieu VRBG (figure23) est interprétée par un résultat négatif et une absence d'entérobactéries dans l'échantillon analysé.

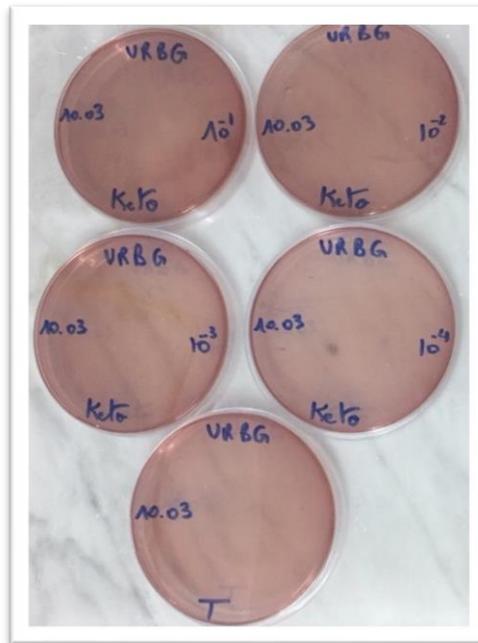


Figure 23 Culture sur le milieu VRBG

Les résultats de la recherche d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et de *Pseudomonas aëroginosa* sont présentés respectivement dans les figures 24, 25, 26 et 27.



Figure 24 Culture sur le milieu MCA

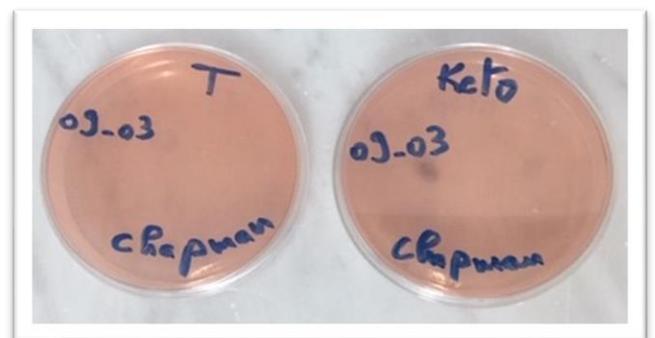


Figure 25 Culture sur le milieu Chapman

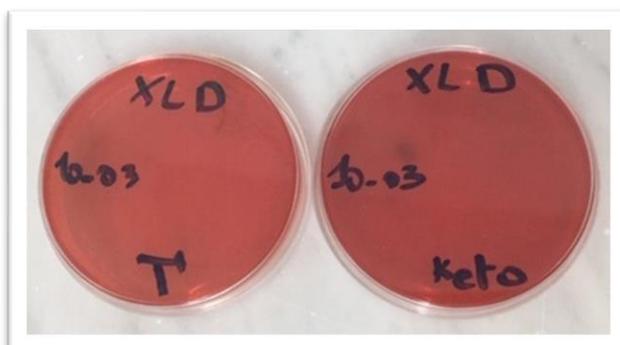


Figure 26 Culture sur le milieu XLD

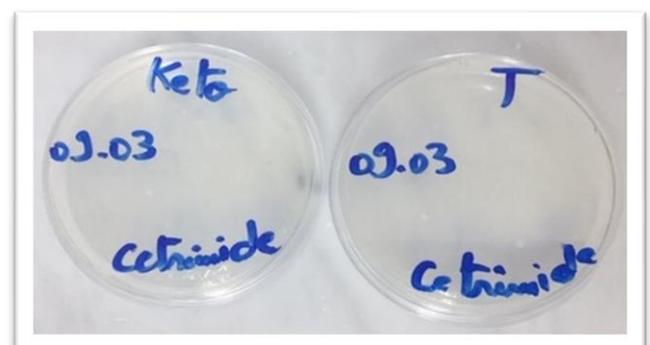
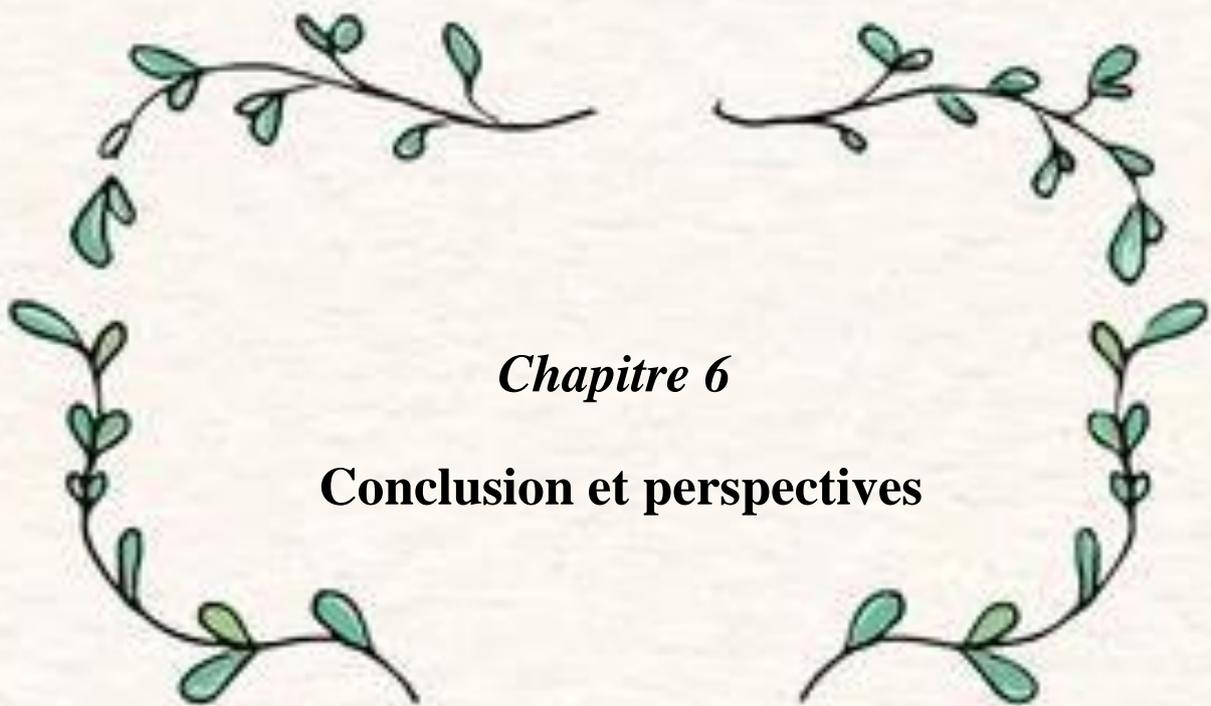


Figure 27 Culture sur le milieu Cétrimide

On remarque l'absence totale de colonies rouges et des colonies blanches jaunâtres entourées d'un halo doré sur milieu Chapman, ainsi que des colonies rouges bien développées sur gélose XLD, indique l'absence totale d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella* respectivement. Tandis que de l'absence de colonies verdâtres et fluorescentes sur la gélose cétrimide signifie l'absence de *Pseudomonas aëroginosa* dans le produit fini.

Ces résultats répondent aux exigences de la pharmacopée européenne 9ème édition, ceci confirme que le produit fini KETOPROFENE LDM® 2.5% Gel est de bonne qualité microbiologique et apte à la consommation humaine. Cette qualité microbiologique s'explique par l'efficacité de la désinfection du matériel et des locaux, le contrôle des règles d'hygiène, les bonnes conditions qui assurent la conservation des produits finis, et le respect total des Bonnes pratiques de fabrication (BPF).



Chapitre 6

Conclusion et perspectives

6- Conclusion et perspectives

Le contrôle qualité est obligatoire et permet d'assurer la sécurité des patients et amener le médicament au même niveau que les exigences satisfaisantes. Il consiste en une succession d'étapes qui doivent être parfaitement maîtrisées.

Cette étude a permis d'évaluer la qualité du médicament commercialisé KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel par des analyses physicochimiques et microbiologiques de sa matière première, ses excipients et du produit fini au sein du laboratoire LDM groupe. Sur le plan physico-chimique, les analyses réalisées permettent de vérifier l'identité, la qualité et la pureté du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel. Par ailleurs, sur le plan microbiologique, le produit s'avère être exempt de tout microorganisme pouvant nuire à la santé des consommateurs.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que les matières premières utilisées pour la préparation de KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel sont, d'une part, pures, grâce à la mise en œuvre des méthodes performantes de fabrication, de conditionnement et de conservation qui, d'autre part, confèrent la conformité du produit fini par rapport aux normes de la pharmacopée européenne 2019.

Ce travail a permis d'explorer et de réunir les principaux procédés de contrôle qualité d'un produit pharmaceutique, à chaque étape de sa fabrication, de développer une vision propre nécessaire sur la vie professionnelle et d'acquérir une expérience dans le domaine de l'industrie pharmaceutique. Ainsi, il est important de clarifier, par la lumière de ce travail que l'unité LDM produit des médicaments dans le respect des exigences de la pharmacopée européenne et les normes internationales. Cependant, quelques perspectives découlent de cette recherche qui représente une porte entrouverte sur ce qui peut être fait dans le domaine du contrôle qualité, à savoir :

- Evaluation de la stabilité du KETOPROFENE LDM[®] 2.5% Gel,
- Evaluation de biodisponibilité *in vivo* qui permet de déterminer avec précision l'efficacité thérapeutique d'un générique par rapport à son princeps.

*Références
bibliographiques*

A

Aiache J.M., Beyssac E., Cardot J.M., Hoffart V. et Renoux R., (2008). Initiation à la connaissance du médicament. Elsevier Masson SAS, France.

Ainsworth G C; Bisby G R; Kirk P.M; Cannon P.F and David J.C (2001). Ainsworth and Bisby's Dictionary of Fungi. 9th Edition. Edited by. Wallingford, Oxon, UK; New York, NY: CABI Pub.

Anonyme 1 : Pharmacorama (2020). Connaissance des médicaments. Pharmacologie <https://www.pharmacorama.com/pharmacologie/> [Accessed on 2020]

Anonyme 10 : National Library of Medicine. *National Center for Biotechnology Information.* Ketoprofene (2020). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ketoprofen> [Accessed on 2020]

Anonyme 11 : Sciences et avenir. Inflammation, définition, causes, traitement (2020). https://www.sciencesetavenir.fr/sante/systeme-sanguin/inflammation-definition-causes-traitements_120001 [Accessed on 2020]

Anonyme 12 : APS. Santé science technologie. Nécessité d'inclure l'arthrose dans la liste des maladies chroniques handicapantes (2020). <http://www.aps.dz/sante-science-technologie/62932-necessite-d-inclure-l-arthrose-dans-la-liste-des-maladies-chroniques-handicapantes> [Accessed on 2020]

Anonyme 13 : Le Guide d'Utilisation du KARL FISCHER Marque : METTLER TOLEDO. 2011.

Anonyme 2 : Article L.5111-1 du Code de la santé public en France, 2020.

Anonyme 3 : Le Guide d'Utilisation du FOUR A MOUFLE Marque : NUVE / MF 120. 2005.

Anonyme 4: Institute of Medicine (IOM), 2000. Clearing the air: Asthma and indoor air exposure. Committee on the assessment of asthma and indoor air. National Academy Press. Washington. 456 p.

Anonyme 5 : Site officiel du SAIDAL Sience et santé (2020). <http://www.saidalgroup.dz/fr/nos-filiales/iberal> [Accessed on 2020]

Anonyme 6 : Conférences d'actualisation 2000. Pharmacologie des anti-inflammatoires non stéroïdiens et indications pour l'analgésie postopératoire. Edition Elsevier: SAS et SFAR, pp: 323-334, Paris.

Anonyme 7 : World Health Organization. (2005). Control and safe trade of starting materials for pharmaceutical products.

https://www.who.int/medicines/publications/qa_starter/en/ [Accessed March 21, 2005].

Anonyme 8 : Binder (2020). Qu'entend-on par Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

<https://blog.binder-world.com/fr/quentend-on-par-bonnes-pratiques-de-laboratoire> [Accessed on 2020]

Anonyme 9 : le figaro santé. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (2020).

<https://sante.lefigaro.fr/sante/traitement/anti-inflammatoires-non-steroidiens/mecanisme-daction> [Accessed on 2020]

Avril J-L., Dabernat H., Denis F., Monteil H (1999). Bactériologie clinique. ELLIPSES, France.



Bach, E (1994). La guérison par les fleurs. Courrier du Livre, France. 124 pages

Bannwarth B, (1992). Anti-inflammatoire non stéroïdiens. Principe et règles d'utilisation. La revue du praticien, pp : 1165-1170.

Ben Bouabdellah, A., Saidi, M (2017). Validation du médicament venlafaxine par la méthode d'analyse UV visible par des calculs statistiques. Mémoire, Université M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES, Algérie.

Bergon L (2016). S. capitis, S. caprae et S. lugdunensis : rôle dans les infections ostéo-articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques. Thèse de doctorat. UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER, TOULOUSE.

Bonnes Pratiques de Fabrication (2011) : Ministère du travail, de l'emploi et de la santé : agence française de la sécurité sanitaire des produits de santé. Bulletin officiel N°2011/8bis. Paris.

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

Bornert, G (2000). Le poulet sans salmonelles : mythe ou réalité ? Revue Médecine Vétérinaire, 151, pp : 1083-1094.

Boucenane, K (2018). Etude de processus de fabrication et de contrôle qualité d'une forme liquide, sirop antitussif « Eupnex ». Mémoire. Université Frères Mentouri Constantine 1, Constantine.

Bouchard, J. (2009). Les bonnes pratiques de fabrication dans l'industrie pharmaceutique, Enjeux, défis et applications. Les Presses de l'Université Laval, Canada.

Burgot, G., et Burgot, JL. (2011). Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques. Édition TECHNIQUE & DOCUMENTATION. Paris.

e

Caron, A (2006). Larousse médical. Larousse, Paris.

Clotilde C (2015). Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat. L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE, Paris.

d

Daikh et Dafri (2017). Contrôle qualité physico-chimique et microbiologique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg. Mémoire. Université Frère Mentouri Constantine 1, Constantine.

Develoux M., Bretagne S (2014). Candidoses et autres levures. EMC-Maladies infectieuses. Elsevier, pp 11-13.

ε

Elghozi J.L., et Duval D. (1987). Aide-mémoire de pharmacologie. Flammarion médecine – science, Paris.

Ernoul R. (2013). Le grand livre de la qualité : management par la qualité dans l'industrie, une affaire de méthode. Édition AFNOR 2010.

g

Garnier M. Delamare J. (2017). Dictionnaire illustré des termes de médecine. 32ème Edition, Edition Maloine, Paris.

Gazengel (J.- M) et arecchioni (A.-M.), (2009). Le préparateur en pharmacie. 2^{ème} édition, Paris.

Ghorri. S (2019). *Contrôle Qualité des Produits alimentaire : cours.* Université Frère MANTOURI. Constantine.

Giesen E (2008). Démarche qualité et norme ISO 9001. IRD éditions.

h

Hadj Salem, J (2009). Extraction, Identification, Caractérisation des Activité Biologique de FLAVONOÏDES de NITRARIA RETUSA et Synthèse de dérivés acyclés de ces molécules par voie Enzymatique. Thèse de doctorat, INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, Nancy.

Ø

Joly B., Reynaud A (2003). Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Tec & Doc. France.

κ

Katzung., Bertram, G. (2006). Pharmacologie fondamentale et clinique. Edition Piccin,Padoue. Italie.

Keravec, J. (2004). Assurance qualité des médicaments. Management science for health.

Koissi joel F. (2008). Contrôle de qualité des comprimés non enrobés cas d'un générique et d'un princeps de doxycycline. Thèse doctorat. Université MOHAMMED V, Rabat.

Komguel, S. K (2005), Contrôle de qualité de trois antipaludiques dérivés de l'artémisinine (Artemether, Artesunate, Dihydroartemisinine) au Laboratoire National de la Santé. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Bamako.

ℒ

Lanet. J. (1991). La qualité pharmaceutique. Edition santé. France.

Larabi, A (2019). Fabrication et Contrôle qualité d'un médicament sous forme suppositoire « CLOFENAL® 100mg ». Mémoire. Université Akli Mohand Oulhadj, Bouira.

Le Bail, N (2017). Pratique d'un groupe de médecins généralistes de Vendée par la méthode de focus groupe. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine. Université de Nantes faculté de médecine, France.

Le Hir A., Chaumeil J-C., Brossard D., et S Crauste-Mancllet S. (2009). Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Elsevier-Masson, Paris.

Leclerc, J., Blais, C., Guénette, L., et Poirier, P (2016). Médicaments génériques et médicaments originaux. Revue officielle de l'Ordre des infirmières et infirmiers du Québec, pp : 40.

ℳ

Margerand, J. Gillet-Goinard, F. (2006). Manager la qualité pour la première fois. Conseil pratique : diagnostic, plan d'action, certification ISO 9001 (coordonné par Geodif), pp : 34-35. Editions d'Organisation, Paris.

MATHIEU S., DEL CERRO C., NOTIS M-H. (1996). Gérer et assurer la qualité : qualité et efficacité des organisations AFNOR, 6e édition.

Montalegre R (2016). Evaluation du risque d'émergence de résistances de *Pseudomonas aeruginosa* à différents antibiotiques antipyocyaniques en réanimation. Thèse de doctorat, UNIVERSITÉ TOULOUSE III – Paul SABATIER, Toulouse.

Muster, D (2005). Médicament de l'inflammation. EMC-Stomatologie, pp: 21-29.

N

Nafti, Y., Chenouf, A. (2008). Contribution à l'étude de la cinétique de libération d'un Principe actif : oxacilline sodique encapsulé en vue de déterminer les conditions de conservation. Mémoire d'ingénieur d'état, université Ziane Achour de Djelfa, Algérie.

Nouhoum, T.M. (2009). Etude de stabilité des comprimés sous blister de l'Usine Malienne de Produits Pharmaceutiques : Cas du paracétamol et du chloramphénicol, thèse Doctorat, Université de Bamako Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS).

O

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

Ounas (2016). Chimie analytique. Cours : Méthodes pharmacopées, 5ème année, pharmacie.

P

PE 2007. Pharmacopée européenne. 6ème édition. Publiée en 2007.

Pharmacopée Européenne (2016). 9ème édition.

Pharmacopée Européenne.2014, 8émé Edition, Version électronique (CD-ROM).

Pradeau., D (1992). Analyse pratique du médicament. TECHNIQUE & DOCUMENTATION. France.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., Willey J.M., Sherwood L.M. et Woolverton C.J., (2010) : Microbiologie 3ème Edition. De Boeck Supérieur, p1086.

R

Rebiere, H., Mazel, B., Civade, C., Bonnet, P-A. (2007). Determination of 19 antiretroviral agents in pharmaceuticals or suspected products with two methods using high-performance liquid chromatography. Journal of chromatography. B, 850, (1), pp: 376-383.

Rouessac, F., Rouessac, A. (2004). Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes : cours et exercices. Dunod, Paris.

Rouleau, C. (2007). Immunologie. Cours : Réaction inflammatoire. Faculté de médecine Montpellier. Montpellier.

Rousselet, MC. Vignaud, J.M. Hofman, P. et Chatelet F.P. (2005) : Inflammation et pathologie inflammatoire (chapitre 3). Masson 2^{ème} édition, pp: 261-264.

S

Scriban R. (1999). Biotechnologie Tec & Doc. LAVOISIER/ TEC ET DOC, Paris.

Sébastien M., Mathieu G., Nicolas C. (2014). Bases fondamentales en pharmacologie : Sciences du médicament. Elsevier-Masson, Paris.

Shen, Y., Smith, R-D. (2008). Electrophoresis, Hight Performance Liquid Chromatography. Canada: WILEY-INTERSCIENCE. 1104 p.

Simpson E. (2016). Pharmaceutical process: validation, qualification and calibration. Understanding crucial manufacturing processes in a pharmaceutical facility. 1 ere page.

»

Wehrlé, P. (2012). Pharmacie Galénique, formulation et technologie pharmaceutique. MALOINE. 2ème édition, France.

WHO (2006). World Health Organization. Supplementary Guidelines on Good Manufacturing Practices: Validation. WHO Technical Report Series, N°= 937, 2006.

WHO. (2000). Stratégie pharmaceutique de l'OMS : Cadre d'action pour les médicaments essentiels et politiques pharmaceutiques.

Wojtkowiak, B., et Chabanel, M. (1977). Spectrochimie moléculaire. Technique et Documentation, Paris.

Annexes

Annexe 2. Préparation des milieux de culture**Solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7,0 « TSE »**

Phosphate monopotassique	3,6 g
Phosphate disodique dihydraté	7,2 g équivalent à 0,067 M de phosphate
Chlorure de sodium	4,39 g
Peptone de viande ou de caséine	10g
Eau purifiée	1000 ml
Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.	

Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja « TSB »

Peptone pancréatique de caséine	17,0 g
Peptone papaique de soja	3,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate dipotassique Glucose monohydraté	2,5 g
Eau purifiée	1000 ml
Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,3 +0,2 à 25 °C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.	

Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja « TSA »

Peptone pancréatique de caséine	15,0 g
Peptone papaique de soja	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Gélose	15,0 g
Eau purifiée	1000 ml
Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,3 +0,2 à 25 °C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.	

Milieu Sabouraud dextrosé-gélosé « SDA »

Dextrose	40,0 g
Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine (1:1)	10,0 g
Gélose	15,0 g
Eau purifiée	1000 ml

Milieu d'enrichissement pour les entérobactéries-Mossel « EE-Mossel »

Hydrolysate pancréatique de gélatine	10,0g
--------------------------------------	-------

Glucose monohydraté	5,0 g
Bile de bœuf déshydratée	20,0g
Phosphate monopotassique	2,0 g
Phosphate disodique dihydraté	8,0 g
Vert brillant	15 mg
Eau purifiée	1000 ml
Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,2 +0,2 à 25 °C après chauffage. Chauffez à 100 °C pendant 30 min et refroidissez immédiatement.	

Milieu gélosé à la bile-violet-rouge avec glucose « VRBG »

Extrait de levure	30g
Hydrolysate pancréatique de gélatine	7,0 g
Sels biliaires	1,5 g
Chlorure de sodium	50g
Glucose monohydraté	10,0 g
Gélose	15,0 g
Rouge neutre	30 mg
Violet cristallisé	2 mg
Eau purifiée	1000 ml
Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,4 +0,2 à 25 °C après chauffage. Chauffez à ébullition ; ne chauffez pas en autoclave.	

Milieu liquide de MacConkey « MCB »

Hydrolysate pancréatique de gélatine	20,0 g
Lactose monohydrate	10,0 g
Bile de bœuf déshydratée	5,0 g
Pourpre de bromocrésol	10 mg
Eau purifiée	1000 ml
Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,3 + 0,2 à 25 °C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.	

Milieu gélosé de MacConkey « MCA »

Hydrolysate pancréatique de gélatine	17,0 g
Peptones de viande et de caséine	30g
Lactose monohydrate	10,0 g

Chlorure de sodium	5,0 g
Sels biliaires	1,5 g
Gélose	13,5 g
Rouge neutre	13,5 g
Violet cristallisé	1 mg
Eau purifiée	1000 ml
Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,1 0,2 à 25 °C après stérilisation. Portez à ébullition pendant 1 min en agitant constamment, puis stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.	

Milieu liquide d'enrichissement pour les salmonelles Rappaport-Vassiliadis « RVB »

Peptone de soja	4,5 g
Chlorure de magnésium hexahydraté	29,0 g
Chlorure de sodium	8,0 g
Phosphate dipotassique	0,4 g
Phosphate monopotassique	0,6 g
Vert malachite	0,036 g
Eau purifiée	1000 ml
Dissolvez en chauffant doucement. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé, à une température ne dépassant pas 115 °C. Le pH doit être de 5,2 0,2 à 25 °C après chauffage et passage à l'autoclave.	

Milieu gélosé Xylose-Lysine-Désoxycholate « XLD »

Xylose	3,5 g
L-Lysine	5,0 g
Lactose monohydrate	7,5 g
Saccharose	7,5 g
Chlorure de sodium	5,0g
Extrait de levure	3,0 g
Rouge de phénol	80 mg
Gélose	13,5 g
Désoxycholate sodique	2,5 g
Thiosulfate de sodium	6,8 g
Citrate ferrique et d'ammonium	0,8 g
Eau purifiée	1000 ml
Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,4 +0,2 à 25 °C après chauffage. Chauffez à ébullition, refroidissez à 50 °C et répartissez en boîtes de Pétri. Ne chauffez pas en autoclave.	

Milieu gélosé-cétrimide

Hydrolysate pancréatique de gélatine	20,0 g
Chlorure de magnésium	1,4 g
Sulfate dipotassique	10,0 g
Cétrimide	0,3 g
Gélose	13,6 g
Eau purifiée	1000 ml
Glycérol	10,0 ml
<p>Chauffez à ébullition pendant 1 min en agitant. Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,2 – 0,2 à 25 °C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.</p>	

Milieu gélosé mannitol-sel « Chapman »

Peptone pancréatique de caséine	5,0 g
Peptone peptique de tissu animal	5,0 g
Extrait de viande de bœuf	1,0 g
D-Mannitol	10,0 g
Chlorure de sodium	75,0 g
Gélose	15,0 g
Rouge de phénol	0,025 g
Eau purifiée	1000 ml
<p>Chauffez à ébullition pendant 1 min en agitant. Ajustez le pH pour qu'il soit de 7,4 +0,2 à 25°C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.</p>	

Annexe 3. Paramètre dans le laboratoire physico-chimique

Matériel consommable physico-chimique

- Eprouvette en verre graduée.
- Spatule en inox.
- Burette.
- Fioles jaugées en verre (50ml, 100ml et 150ml).
- Béchers.
- Vials.
- Seringues.
- Plaque CCM.
- Creusets.

Appareillage physico-chimique

- Hotte à flux laminaire.
- Bain Marie.
- Distillateur.
- Balance à précision.
- Spectrophotomètre IR.
- Spectrophotomètre d'absorption UV /VIS
- Agitateur magnétique.
- Etuves.
- pH mètre.
- Four à moufle
- Bain ultrason.
- HPLC
- KF.
- Potentiomètre.

Annexe 4. Paramètre dans le laboratoire microbiologique

Matériel consommable microbiologique

- Boîtes de pétri stériles.
- Tubes à essais.
- Portoirs.
- Gants stériles.
- Parafilm.
- Seringues stériles.
- Flacons vides avec bouchons stériles.
- Pipettes Pasteur stériles.
- Pipettes graduées stériles.
- Poire ou propipettes.
- Erlenmeyers avec bouchons stériles.
- Bêcher.
- Eprouvette en verre graduée.
- Spatule en inox.

Appareillage microbiologique

- Balance analytique.
- Bec Bunsen.
- Incubateurs à : 23°C, 33°C, 43°C.
- Agitateur vortex.
- Hotte à flux laminaire.
- Autoclave
- Bain marie

Annexe 5. Résultats et calculs

1- Résultats d'identification par HPLC

*Résultats de solution standard

	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1	Peak1	1,435	72444	3,92	4130
2	Kétoprofène	5,528	1777833	96,08	163388

* Résultats de solution essai du lot 9103

	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1		1,275	63098	3,26	3829
2	Peak1	1,436			
3		3,139	78686	4,06	11724
4	Kétoprofène	5,481	1796492	92,69	175180

*Résultats de solution essai du lot 9104

	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1		0,086	5509	0,27	688
2	Peak1	1,433	74685	3,67	4157
3		3,139	82104	4,03	12256
4	Kétoprofène	5,481	1874551	92,03	181737

* Résultats de solution essai du lot 9105

	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1		1,275	70014	3,46	3924
2	Peak1	1,436			
3		3,139	81193	4,02	12043
4	Kétoprofène	5,480	1870508	92,52	179624

2- Résultats d'uniformité de masse

lot	t pein	t vide	contenu	X	min	max
9103	68,7061	9,2443	59,46	59,64	59,38	59,81
	68,7032	9,3231	59,38			
	68,8693	9,1596	59,71			
	68,7136	9,0549	59,66			
	68,5525	9,0638	59,49			
	68,7644	9,0739	59,69			
	68,8714	9,0616	59,81			
	68,9734	9,1863	59,79			
	68,8389	9,1715	59,67			
69,013	9,3155	59,70				

lot	t pein	t vide	contenu	X	min	max
9104	68,6032	9,2817	59,32	59,53	59,02	60,33
	68,4923	8,8556	59,64			
	68,6179	9,4383	59,18			
	68,4774	9,4583	59,02			
	68,5201	8,8462	59,67			
	68,3166	8,9025	59,41			
	69,1738	8,8425	60,33			
	68,4251	9,2033	59,22			
	68,61	8,7857	59,82			
	68,4688	8,7867	59,68			

lot	t pein	t vide	contenu	X	min	max
9105	69,192	9,2023	59,99	60,11	59,62	60,36
	69,1609	8,8429	60,32			
	69,0643	9,4438	59,62			
	69,0953	8,967	60,13			
	69,1493	8,786	60,36			
	69,016	8,8417	60,17			
	69,0615	8,9368	60,12			
	69,1438	8,8554	60,29			
	69,073	8,8369	60,24			
69,0254	9,164	59,86				

3- Résultats du dosage du PA

*Conformité du système:

Component Summary For Area LBo21
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Peak1	Kétoprofène
1	std	1	W2489 ChA	49	75148	1783559
2	std	2	W2489 ChA	49		1780848
3	std	3	W2489 ChA	49	72444	1777833
4	std	4	W2489 ChA	49	75971	1779859
5	std	5	W2489 ChA	49	81144	1780304
Mean					76176	1780480
Std. Dev.					3638	2064
% RSD					4,8	0,1

*Formule de calcul :

$$\text{Ketoprofène\%} = \frac{Ae}{As} \times \frac{Cs}{Ce} \times \frac{ts}{100} \times \frac{100-LOD}{100} \times \frac{100}{2.5} \times 100$$

*Exemple de calcul :

$$\% = \frac{1796492}{1780480} \times \frac{50}{50} \times \frac{5}{100} \times \frac{50}{415.3} \times \frac{100}{25} \times \frac{99.38}{100} \times \frac{100-0.11}{100} \times \frac{100}{2.5} \times 100 = 96.54\%$$

ketoprofene Tubes fermés

lot	As	Ae	Ws	We	Ts	LOD	%	X
9103	1780480	1796492	50	415,3	99,38	0,11	96,47	96,54
	1780480	1798996	50	415,3	99,38	0,11	96,61	
9104	1780480	1866829	50	406,9	99,38	0,11	102,32	102,53
	1780480	1874551	50	406,9	99,38	0,11	102,74	
9105	1780480	1873500	50	417,6	99,38	0,11	100,05	99,97
	1780480	1870508	50	417,6	99,38	0,11	99,89	

4- Résultats du Sub App

*Conformité du système :

Component Summary For Area LBo21
Channel: W2489 ChA

	Propyl	Kétoprofène	Peak10	Peak11	Peak12	Peak13	Peak14	Peak15	Peak16	Peak17
1	44385	3527773	3559	214	29	47	39	655	533	231
2	42255	3504743	3817	118	111		60	747	243	121
3	46355	3508432	3608	64	30			661	21	
4	45950	3508883	3332			389	47	946	296	159
5	44504	3522082	3849	92		27		723	711	228
Mean	44688	3513575	3593	121	57	154	49	747	381	184
Std. Dev.	1615	10579	184	65	47	204	11	118	268	54
% RSD	3,6	0,3	5,1	53,9	83,3	132,0	21,7	15,8	74,2	29,1

*Formule de calcul :

$$\text{Pourcentage de chaque impureté \%} = \frac{ri}{rs} \times 100$$

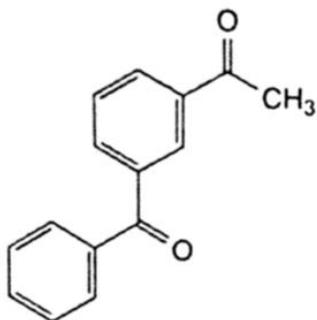
*Exemple de calcul :

$$\% = \frac{3840}{3770668} \times 100 = 0.10\%$$

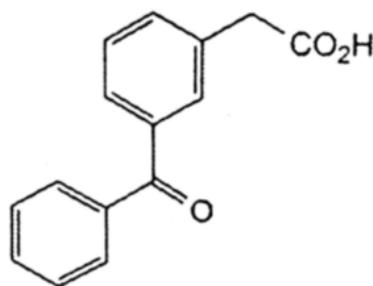
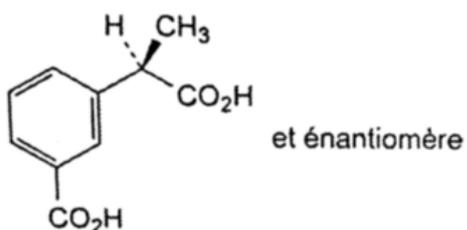
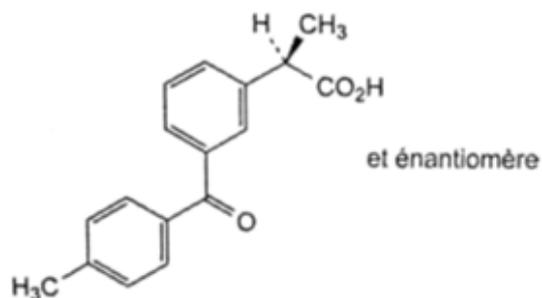
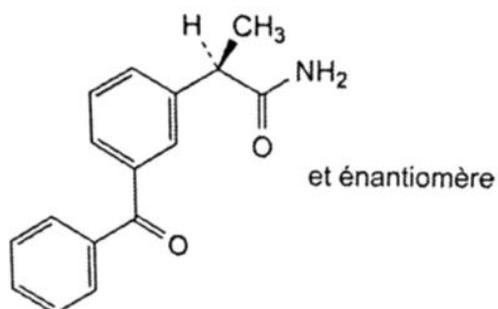
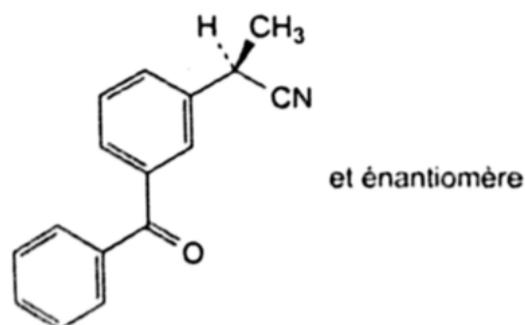
SUB Ketopropene 2,5				
LOT	ketopropene	imp inc	Σ imp	%
9103	3770668	3840	3770668	0,10
9104	3741976	4119	3741976	0,11
9105	3796237	4214	3796237	0,11

Annexe 6. Impuretés spécifiées

Impureté A : 1-(3-benzoylphényl) éthanone



Impureté B : acide (3-benzoylphényl) acétique

Impureté C : acide 3-[(1*RS*)-1-carboxyéthyl] benzoïqueImpureté D : acide (2*RS*)-2-[3-(4-méthylbenzoyl) phényl] propanoïqueImpureté E : (2*RS*)-2-(3-benzoylphényl) propanoïqueImpureté F : (2*RS*)-2-(3-benzoylphényl) propanenitrile

Annexe 7. Préparation des solutions témoins**Solutions primaires*****Solution jaune.***

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 $\text{FeCl}_3,6\text{H}_2\text{O}$ par millilitre, par addition du même mélange acide. Conservez à l'abri de la lumière.

Titration. Dans une fiole conique de 250 mL à bouchon rodé, introduisez 10,0 mL de la solution, 15 mL d'eau R, 5 mL d'acide chlorhydrique R et 4 g d'iodure de potassium R. Fermez la fiole, laissez reposer à l'obscurité pendant 15 min, puis ajoutez 100 mL d'eau R. Titrez l'iode libéré par le thiosulfate de sodium 0,1 M en présence de 0,5 mL de solution d'amidon R ajouté en fin de titrage.

1 mL de thiosulfate de sodium 0,1 M correspond à 27,03 mg de $\text{FeCl}_3,6\text{H}_2\text{O}$.

Solution rouge.

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 $\text{CoCl}_2,6\text{H}_2\text{O}$ par millilitre, par addition du même mélange acide.

Titration. Dans une fiole conique de 250 mL à bouchon rodé, introduisez 5,0 mL de la solution, 5 mL de solution diluée de peroxyde d'hydrogène R et 10 mL de solution d'hydroxyde de sodium R à 300 g/L. Faites bouillir doucement pendant 10 min, laissez refroidir, puis ajoutez 60 mL d'acide sulfurique dilué R et 2 g d'iodure de potassium R. Fermez la fiole et dissolvez le précipité en agitant doucement. Titrez l'iode libéré par le thiosulfate de sodium 0,1 M jusqu'à coloration rose, en présence de 0,5 mL de solution d'amidon R ajouté en fin de titrage.

1 mL de thiosulfate de sodium 0,1 M correspond à 23,79 mg de $\text{CoCl}_2,6\text{H}_2\text{O}$.

Solution bleue.

Dissolvez 63 g de sulfate de cuivre pentahydraté 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 $\text{CuSO}_4,5\text{H}_2\text{O}$ par millilitre, par addition du même mélange acide.

Titration. Dans une fiole conique de 250 mL à bouchon rodé, introduisez 10,0 mL de la solution, 50 mL d'eau R, 12 mL d'acide acétique dilué R et 3 g d'iodure de potassium R. Titrez l'iode libéré par le thiosulfate de sodium 0,1 M jusqu'à faible coloration brun clair en présence de 0,5 mL de solution d'amidon R ajouté en fin de titrage.

1 mL de thiosulfate de sodium 0,1 M correspond à 24,97 mg de $\text{CuSO}_4,5\text{H}_2\text{O}$.

Solutions étalons

A partir des 3 solutions primaires, préparez solutions étalons comme suit :

Tableau : préparation des solutions étalons

Solution étalon	Volumes en millilitres			
	Solution jaune	Solution rouge	Solution bleue	Acide chlorhydrique à 10 g/L de HCl
B (brun)	3,0	3,0	2,4	1,6
JB (jaune-brun)	2,4	1,0	0,4	6,2
J (jaune)	2,4	0,6	0,0	7,0

Tableau - *Solution témoin J*

Solution témoin	Solution étalon J (ml)	Acide chlorhydrique à 10 g/L de HCl (ml)
J ₆	5,0	95,0

Tableau - *Solution témoin JB*

Solution témoin	Solution étalon JB (ml)	Acide chlorhydrique à 10 g/L de HCl (ml)
JB ₆	5,0	95,0

Tableau - *Solution témoin B*

Solution témoin	Solution étalon B (ml)	Acide chlorhydrique à 10 g/L de HCl (ml)
B ₆	5,0	95,0