



UNIVERSITE DE FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUEE



Rapport de Mémoire de Fin de Cycle

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de master professionnalisant

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité: Bio-industrie, Analyse et Contrôle

Thème

Analyse physico-chimique et microbiologique d'une forme injectable, «CEFALIZOL® HUP 1g»

Présenté par :

BaBaouamer Abdelhakim

soutenu Le : 13/7/2021

Membres du jury d'évaluation :

Président de jury : Dr. Gherboudj Ouissem (UFMC1)

Rapporteur : Dr. Dinar Karim (UFMC1)

Examineur : Dr. Benchiheb Meriem (UFMC1)

Responsable de stage pratique : Mr. BELHADEF Fakhr Eddine Chargée du
laboratoire physicochimique HUPP....ZI Le Palma-Constantine

Année universitaire : 2020-2021

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, je remercie mon encadreur Mr. DINAR Karim, pour l'orientation, la confiance, et son aide durant toute la période du travail.

Je remercie madame, Dr. Gherboudj Ouissem le président de jury.

Je remercie aussi Dr. Benchiheub Meriem d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner le travail.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel de HUP PHARMA et plus particulièrement Mr. Fakhr Eddine pour leur patience, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont portaient à mes travaux.

Mon remerciement s'adresse aussi à tous les enseignants du département de Biologie appliquée pour leurs aides et encouragements au cours de mes études.

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents : **Bakir** et **Laila** sans eux je n'est pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours leurs soutiens et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches, Je pris Dieu pour qu'il vous accorde santé et une longue vie.*

*A Mon frère et mes sœurs : **Riad, Meriem et Ndjema** pour votre amour, Votresoutien, et support Je vous remercie de tout cœur.*

*A tous mes amis et mes proches tout en son nom, pour vos fidèle amitié et les bons moments passés ensemble tout au long de mes études et en dehors. A tout les membres de ma famille **BaBaouamer** et a tout personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes études.*

Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1

Chapitre 1 : Généralités sur les médicaments

1. Généralités sur les médicaments	3
1.1. Définition.....	3
1.1.1. Composition	3
1.1.1.1. Substance active.....	3
1.1.1.2. Origine des substances actives.....	4
1.1.2. Excipients	7
1.1.2.1. Définition	7
1.1.2.2. Intérêt des excipients.....	8
1.1.2.3. Propriétés de l'excipient.....	8
1.1.2.4. Caractéristiques du médicament.....	9
1.1.3. Classification des médicaments.....	9
1.1.3.1. Classification thérapeutique.....	9
1.1.3.2. Classification pharmacologique.....	10
1.1.3.3. Classification chimique.....	10
1.2. Présentation de cefazoline.....	10
1.2.1. Définition.....	10
1.2.2. Description.....	11
1.2.3. Structure et propriétés physico-chimiques.....	11
1.2.4. Propriétés pharmacologiques.....	12
1.2.4.1. Propriétés pharmacodynamiques.....	12
1.2.4.2. Mécanisme d'action.....	12
1.2.4.3. Mécanisme de résistance	12
1.2.4.4. Concentrations critiques des tests de sensibilité.....	13
1.2.4.5. Sensibilité microbiologique.....	13

1.2.4.6. Relation pharmacocinétique /pharmacodynamique.....	14
1.2.5. Mode d'administration de Céfazoline.....	14
1.2.5.1. Voie intramusculaire	14
1.2.5.2. Voie intraveineuse.....	15
1.2.5.3. Elimination.....	15
1.2.5.4. Perfusion intermittente on continue.....	16
1.2.6. Effets indésirables.....	16
1.2.6.1. Troubles gastro-intestinaux.....	16
1.2.6.2. Allergies.....	16
1.2.6.3. Troubles hématologiques.....	16
1.2.6.4. Troubles hépatiques et rénaux.....	16
1.2.6.5. Réaction locales.....	17
1.2.6.6. Autres réactions.....	17

Chapitre 2 : Préparations injectables et stérilisation

2. Préparation injectables.....	18
2.1.Définition.....	18
2.1.1. Différences voies d'administration.....	19
2.1.1.1.Voies d'administration majeures.....	19
2.1.1.2.Voies d'administration mineures.....	20
2.1.2. Avantage et inconvénients des préparations injectables.....	21
2.1.2.1. Avantage	21
2.1.2.2. Inconvénients	21
2.1.3. Propriétés des préparations injectables.....	21
2.1.3.1. Limpidité.....	22
2.1.3.2.Neutralité	23
2.1.3.3.Isotonie	26
2.1.3.4.Apyogénicité.....	27
2.1.4. Conditionnement des préparations injectables	28
2.1.4.1.Critères d'un matériel de conditionnement pour préparation parentéral.....	28

2.1.4.2. Différents types de récipients utilisés dans les formes parentérales.....	29
2.2. Stérilisation	29
2.2.1. Définition	29
2.2.2. Opérations préliminaires de la stérilisation	30
2.2.3. Différentes méthodes de stérilisation.....	30
2.2.3.1. Stérilisation par les rayonnements.....	30
2.2.3.2. Rayons ultraviolets.....	31
2.2.3.3. Ionisants	31
2.2.3.4. Irradiateurs à rayonnements X.....	32

Chapitre 3 : Techniques de contrôle qualité

3. Contrôle qualité	33
3.1. Définition	33
3.1.1. Objectifs du contrôle de qualité.....	33
3.1.2. Contrôle physico-chimique.....	33
3.1.3. Contrôle microbiologique.....	34
3.2 Techniques de contrôle de qualité physicochimique.....	34
3.2.1. Mesures du PH.....	34
3.2.1.1. Définition.....	34
3.2.2. Mesure de conductivité	35
3.2.2.1. Définition	35
3.2.3. Carbone totale organique.....	36
3.2.3.1. Définition	36
3.2.3.2. Principe	36
3.2.4. Contamination particulaire.....	37
3.2.5. Chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	38
3.2.5.1. Définition	38
3.2.5.2. Principe de la méthode	38
3.2.6. Absorbance par spectrophotométrie UV-visible	39

Chapitre 4 : Matérielles et méthode

4. Matérielles et méthode.....	41
4.1.Présentation de SARL HUPP (Humain Product Pharmaceutical).....	41
4.1.1. Département de contrôle qualité	42
4.1.2. Laboratoire d’analyses microbiologiques.....	42
4.1.3. Laboratoire d’analyses physico-chimiques.....	43
4.2. Contrôle qualité physico-chimique.....	43
4.2.1. Contrôle de qualité physico-chimique de l’eau pour préparations injectables (EPPI)	43
4.2.1.1. Contrôle d’eau PPI en cour de production.....	43
4.2.1.2. Caractère organoleptique.....	43
4.2.1.3. Potentiel hydrogène (PH).....	43
4.2.1.4. Conductivité.....	44
4.2.1.5. Test de carbone organique totale.....	44
4.2.1.6. Test de Nitrate.....	46
4.2.2. Analyse du solvant (EPPI).....	47
4.2.2.1. Essai du volume extractible d’eau PPI.....	47
4.2.2.2. Conductivité	47
4.2.2.3. Test de substances oxydables.....	47
4.2.2.4. Contamination particulaire.....	48
4.2.3. Analyse de la poudre pour injection CFFALIZOL HOUP 1g.....	49
4.2.3.1. Solution constituée.....	49
4.2.3.2. Rotation spécifique.....	50
4.2.3.3. Potentiel d’hydrogène PH	51
4.2.3.4. Masse moyenn.....	51
4.2.3.5. Variation de mass.....	51
4.2.3.6. Contamination particulaire (comptage de particule.....	51
4.2.4. Testes d’indentification	53
4.2.4.1. Identification de cefazoline par HPLC.....	53
4.2.4.2. Teneur en cefazoline sodium (par HPLC).....	54
4.2.4.3. Identification de cefazoline par spectrophotomètre UV-visible.....	58

4.2.4.4. Teneur en eau (par Karl Fisher).....	59
4.3. Contrôle qualité microbiologique	60
4.3.1. Analyse de l'eau PPI.....	60
4.3.2. Analyse du CEFELIZOL HUP 1g.....	61
4.3.2.1. Méthodes utilisées pour l'examen microbiologique « Méthode de Stérilité ».....	61
4.3.2.2. Test de stérilité.....	62

Chapitre 5 : Résultats et discussions

5. Résultats et discussions	64
5.1. Analyse physico-chimique.....	64
5.1.1. Contrôle physico-chimique de l'eau PPI en cour de production.....	64
5.1.2. Analyse physico-chimique du solvant (EPPI).....	65
5.1.2.1. Essai du volume extractible d'eau PPI.....	65
5.1.2.2. Contamination particulaire.....	66
5.1.3. Analyses de poudre pour injection (CEFALIZOL HUP 1 g).....	68
5.1.3.1. Uniformité de masse et masse moyenne.....	68
5.1.3.2. Variation de masse	70
5.1.3.3. Comptage des particules.....	71
5.1.3.4. Identification de CEFAZOLINE par HPLC	71
5.1.3.5. Identification de CEFAZOLINE par UV -visible.....	73
5.2. Analyse microbiologiques	74
5.2.1. Contrôle microbiologique de l'eau PPI.....	74
5.2.2. Analyse du CEFALIZOL HUP 1 g.....	75
Conclusion	76
Références Bibliographiques.....	77
Résumé	

Liste des figures

Figure	Titre	page
Figure 01 :	CEFALIZOL HUP 1 g	11
Figure 02 :	Structure chimique du cefazoline.....	12
Figure 03 :	Poudre pour injection.....	19
Figure 04 :	Voies d'administration parentérales majeures.....	19
Figure 05 :	Injection sous cutanée.....	20
Figure 06 :	Injection intradermique.....	20
Figure 07 :	Solution injectable.....	22
Figure 08 :	Importance de l'isotonie.....	26
Figure 09 :	Procédures d'analyses de COT.....	37
Figure 10 :	Conception générale d'un appareil d'HPLC.....	39
Figure 11 :	Principe de fonctionnement spectroscopie ultraviolet –visible... ..	40
Figure 12 :	Industrie pharmaceutique HUPP PHARMA implantée dans la zone industrielle le palma Constantine	42
Figure 13 :	Flacon d'eau PPI.....	46
Figure 14 :	Ampoule de solvant d'eau PPI.....	49
Figure 15 :	Appareil de comptage des particules.....	53
Figure 16 :	Appareil d'HPLC.....	54
Figure 17 :	Solvant de Tampon A.....	54
Figure 18 :	Solvant de Tampon B.....	55
Figure 19 :	Solvant de standard interne.....	56
Figure 20 :	Solutions essais et standard après dilution.....	57
Figure 21 :	Flacon de CEFAZOLINE SCR.....	58
Figure 22 :	Karl Fisher	60
Figure 23 :	Rampe de filtration....	60
Figure 24 :	Rampe à filtration sous vide +la membrane filtrante....	61
Figure 25 :	Membrane filtrante après filtration, ensemencement et avant incubation.....	61
Figure 26 :	Montage de stérilité.....	63
Figure 27 :	Conistères de stérilité.....	63
Figure 28 :	Flacons de CEFALIZOL 1 g HUP 1 g.....	67

Figure 29 : Chromatogramme de la solutions standard	71
Figure 30 : Chromatogramme de Cefazol 1 g de lot 078.....	71
Figure 31 : Spectre de la solution standard.....	73
Figure 32 : Spectre de la solution de Cefazoline de lot 078.....	73

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau 01	: Quelques propriétés chimiques de Céfazoline	11
Tableau 02	: Concentrations critiques des tests de sensibilité.....	13
Tableau 03	: Espèces de sensibilité microbiologique.....	13
Tableau 04	: Durée d'action après administration IM.....	14
Tableau 05	: Concentration sérique	15
Tableau 06	: Résultats des analyses physicochimiques sur l'eau PPI(EPPI).....	65
Tableau 07	: Résultats du volume extractible d'eau PPI(EPPI).....	66
Tableau 08	: Résultats des analyses physicochimiques sure le solvant EPPI.....	66
Tableau 09	: Résultats des tests d'environnement	67
Tableau 10	: Résultats des tests d'essai.....	68
Tableau 11	: Résultats d'analyse physico-chimique de CEFALIZOL HUP1 g.....	68
Tableau 12	: Résultats d'uniformité de masse de CEFALIZOL HUP 1 g.....	69
Tableau 13	: Résultats de variation de masse de CEFALIZOL HUP 1 g.....	70
Tableau 14	: Résultats des tests d'essai de CEFALIZOL HUP 1 g.....	71
Tableau 15	: Aires et les temps de rétention de chaque chromatogramme	72
Tableau 16	: Titre du CEFALIZOL d'échantillons obtenus à partir du poudre de flacon	73
Tableau 17	: Résultats du contrôle microbiologique sur l'eau	75
Tableau 18	: Résultats du contrôle microbiologique sur la poudre de Cefazoline.....	75

Liste des abréviations

IPEC : International pharmaceutical Excipient council.

OMS : Organisation mondiale de la sante.

DCI : Dénomination commune internationale.

PLP : protéines de liaison a la pénicilline.

CMI : concentration minimales inhibitrices.

IM : Intramusculaire.

IV : Intraveineuse.

PH : Potentiele d'hydrogène.

PA : Principe Actife.

SA : Substance Active.

UV : Ultraviolets.

BPF : Bonnes pratiques de fabrication.

OMS : Organisation mondiale de Sante.

AMM : Autorisation mise sur le marché.

COT : Carbone organique totale.

HPLC : Chromatographie liquide Haute performance.

EPPI : Eau pour préparation injectable.

HUP : Huppharmaceutical.

CL : Chromatographie liquide.

SCR : Substance Chimique de Référence.

ORL: Oto-rhino-laryngologique.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

TSB: Tryptic Soy Broth.

Mm : Masse moyenne.

UFC : Unité Formant Colonie.

μS/ cm : Micro Siemens par Centimètre.

Tr : Temps de Réention.

INTRODUCTION

Introduction

Le secteur de la santé publique est un secteur particulièrement compliqué et délicat. Il se présente comme un système composé de plusieurs volets interactifs. Le médicament constitue à ce titre le volet le plus appréciable. Chaque produit fabriqué dans l'industrie doit subir différentes analyses durant les étapes de fabrication.

La qualité des médicaments est un des soucis majeurs des professionnels des services de santé et des patients, elle se définit par la maîtrise de l'ensemble de paramètres et propriétés qui permettent d'assurer la sécurité des patients, et amener le médicament à un niveau d'exigences satisfaisantes. Afin d'atteindre cette qualité, il faut évaluer les risques

Microbiologiques (liés à la présence de pathogènes) et physico-chimiques (liés aux Modifications des caractères physicochimiques spécifiques) dans les médicaments. En effet, Ceci constitue un grand risque pour les patients et un défi pour les responsables de la sécurité Sanitaire [1].

C'est dans ce contexte de contrôle de qualité que mon stage de fin d'étude de master a été envisagé au sein du « HUP PHARMA », l'unité de Constantine spécialisée dans la production pharmaceutique qui se situe dans la zone industrielle palma.

L'objectif de ce travail était d'acquérir des connaissances pratiques ainsi qu'une connaissance approfondie du secteur d'activité de l'entreprise sans oublier bien entendu de développer mes compétences, la plus importante était le suivi de contrôle de qualité physico-chimique et microbiologique du poudre de Céfazoline poudre pour injection (CEFALIZOL® HUP) pour déterminer sa conformité avec les normes en vigueur et donc sa qualité.

Ce mémoire se comporte donc :

Une première partie, divisée en trois chapitres, le premier chapitre : des généralités sur les médicaments et de Céfazoline, le deuxième est consacré à la préparation injectable est la stérilisation, le troisième présente les différentes méthodes d'analyses utilisées dans l'industrie pharmaceutiques.

Une deuxième partie qui comprend l'étude expérimentale dans laquelle je présente la société

HUP PHARMA, la méthodologie et l'instrumentation utilisée pour effectuer les analyses physicochimiques et microbiologiques du Céfazoline (CEFALIZOL® HUP) contrôlés toute au long de mon stage.

La troisième partie rassemble les résultats obtenus au cour de ce travail avec leur discussion.

CHAPITRE 01:

GENERALITÉS

SUR LES

MÉDECAMENTS

ET CÉFAZOLINE

1. Généralités sur les médicaments

Le médicament constitue le **produit principal** de l'industrie pharmaceutique, et le fruit de recherches soutenues plusieurs années, ce produit se traduit par des bénéfices, parfois majeurs, pour les patients.

1.1. Définition

Le médicament est définie par la Pharmacopée Européenne comme « Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines et/ou animales ; ou toute Substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme et/ou l'animal, ou pouvant lui être administrée en vue soit de restaurer, corriger ou modifier des fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique, soit d'établir un diagnostic médical ».

La Pharmacopée définit également les médicaments à base de plantes comme :

« Tout médicament dont les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs drogues végétales ou préparations à base de drogues végétales ou une association d'une ou de plusieurs drogues végétales et préparations à base de drogues végétales » [1].

1.1.1. Composition

Le médicament est composé d'une ou de plusieurs substance(s) active(s) associée(s) à des excipients ou substances auxiliaires.

1.1.1.1. Substance active

- **Définition**

La substance active est définie par la Pharmacopée Européenne comme : « Toute substance destinée à être utilisée pour la fabrication d'un médicament et qui, lorsqu'elle est utilisée dans la production d'un médicament, devient une substance active du médicament. De telles substances sont destinées à fournir une activité pharmacologique ou un autre effet direct pour le diagnostic, la guérison, l'atténuation, le traitement ou la prévention des maladies, ou à produire un effet sur la structure et la fonction du corps [1].

1.1.1.2. Origine des substances actives :

On distingue des substances actives d'origine :

- Naturelle : végétale, animale ou minérale ;
- Synthétique : issues de la synthèse chimique;
- Biologique ou biotechnologique : issues de la génie génétique.

➤ **Substances actives d'origine naturelle**

- **Substances actives d'origine végétale**

On distingue :

- **Plantes entières ou parties de plantes** : Drogues végétales

Matières premières brutes, plantes ou parties de plantes ayant subi le minimum de manipulation et de transformation avant utilisation.

- **Préparations à base de plantes** : préparations extractives

Produits obtenus en traitant les plantes de façon à réunir les constituants actifs sous un volume réduit de liquide (solvant) [2].

Les préparations extractives sont :

- Les tisanes.
- Les teintures.
- Les nébulisats.
- Les extraits.
- Les huiles essentielles.

- **Substances chimiques pures isolées des plantes** :

Élimination des impuretés et autres substances inutiles présentes dans les préparations extractives par différentes techniques de séparation phytochimiques, elle est conduite à des substances actives chimiquement définies, avec un meilleur contrôle de l'activité thérapeutique.

Quelques exemples marquants :

- Feuilles de digitales => 18^{ième} S : tisane, puis teinture : propriété cardiotonique => 19^{ième} S : digitaline cristallisée.
- Ecorces de quinquina => 18^{ième} S : tisane puis teintures : propriété fébrifuge => 19^{ième} S : quinine cristallisée [2].

- **Substances actives d'origine animale**

Obtenus par des étapes d'extraction souvent longues et difficiles...

Exemples : Hormones (insuline...), enzymes (trypsine...)

Inconvénients : faibles concentrations...

- **Substances actives d'origine minérale**

On peut citer quelques exemples comme le Sulfate de Na, de Mg comme purgatifs et Bicarbonate de Na comme correcteur d'acidité gastrique et le Sulfates de cuivre et de zinc comme antiseptiques et le carbonate de lithium contre les troubles bipolaires.

- **Substances actives d'origine synthétique**

Substances issues de la synthèse chimique (substances artificielles), et qui représentent la plus grande source de substances actives actuellement disponibles...

- **Substance actives biologiques ou de biotechnologie**

Substances obtenues à partir de micro-organismes divers ou à partir de cellules [2].

- **Utilisation de micro-organismes proprement dits**

- Micro-organismes d'organismes inférieurs : champignons, levure de bière.
- Utilisation des bactéries, de virus tués ou atténués dans la fabrication des vaccins : les vaccins.

- **Produits élaborés par les micro-organismes** : techniques de fermentation

Production des antibiotiques par des champignons inférieurs : pénicilline

- **Produits élaborés par des cellules qui ont été préalablement modifiées à cet effet**

Production de l'insuline humaine par l'intermédiaire d'une bactérie

Extraire un fragment d'ADN circulaire d'un micro-organisme

- **Produits de génie génétique**

Extraire délicatement de la cellule humaine un « gène » intéressant et Insérer le gène intéressant dans le fragment d'ADN circulaire extrait et recoller le fragment avec de la colle biologique puis Réinsérer le fragment d'ADN circulaire contenant le gène dans le microorganisme et on Mettre ce montage (microorganisme + ADN circulaire contenant le gène) dans des conditions adéquates de croissance (fermenteur) afin que les microorganismes produisent la protéine d'intérêt encore dénommée protéine recombinante [2].

Exemples :

- Les hormones : insuline contre le diabète - hormone de croissance...
- Les interférons contre l'hépatite C, la sclérose en plaque
- Les interleukines contre le carcinome cellulaire rénal
- Le facteur stimulant des cellules souches hématopoïétiques : autogreffe de moelle osseuse.

1.1.2. Excipients

1.1.2.1. Définition

La Pharmacopée définit l'excipient ou substance auxiliaire comme suit : « Tout composant, autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur (véhicule ou base) au(x) principe(s) actif(s), ou d'entrer dans la composition du vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés du produit telles que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et

l'acceptabilité pour le patient, la facilité de fabrication. La formulation d'un médicament comprend généralement plusieurs excipients ».

L'International Pharmaceutical Excipient Council (IPEC) donne la définition suivante :

« Toute substance, autre que la substance active ou la pro drogue, qui rentre dans le procédé industriel ou qui est contenue dans la forme pharmaceutique finale. Un excipient peut avoir de multiples effets, il peut être un liant, un désintégrant, un diluant, un lubrifiant, un émulsifiant, un agent solubilisant, un conservateur antimicrobien. En plus de l'activité recherchée, l'excipient idéal doit d'une part être chimiquement stable, **non réactif** vis à vis de la substance active et des autres excipients, **inerte** vis à vis du corps humain et enfin être **bien caractérisé** pour être accepté par l'industrie et les instances de régulations. D'autre part, puisque la meilleure formulation est la formulation la plus simple, un excipient multifonctionnel sera d'autant plus apprécié » [3].

Chaque excipient est défini par :

- Des **caractères physicochimiques** (ex : solubilité, pH, viscosité) ;
- Et, des **caractères technologiques** (ex : effet sur dureté, friabilité des comprimés).

En général, seuls les premiers sont décrits dans les monographies d'excipients de la Pharmacopée. Les exigences pour les seconds sont adaptées aux conditions particulières de chaque fabrication [3].

1.1.2.2. Intérêt des excipients

L'excipient est l'auxiliaire du principe actif, il leur est demandé :

- **Faciliter la mise en forme galénique** : diluants, agglutinants dans la fabrication des comprimés ;
- **Améliorer l'acceptabilité du médicament** : aromatisants, édulcorants, colorants, surtout dans les médicaments destinés à la population pédiatrique ;
- **Faciliter l'administration des principes actifs** : solvants (solutions injectables et buvables) ;

- **Améliorer l'efficacité du principe actif** : c'est le cas d'un excipient pour pommade qui facilite la pénétration d'un principe actif ou de celui d'une forme à libération prolongée qui augmente la durée d'activité ;
- **Assurer ou améliorer la stabilité et la conservation du médicament** : conservateurs antimicrobiens, antiseptiques, antifongiques...
- **Solubiliser le principe actif** : c'est le cas d'une substance lipophile dans une huile ou une émulsion;
- **Protection du principe actif** : par exemple contre l'acide gastrique.
- **Modifier la biodisponibilité, la demi-vie de la substance active.**
- **Accélérer ou Ralentir la résorption du médicament** [4].

1.1.2.3. Propriétés de l'excipient :

Une seule propriété est commune à tous les excipients : l'inertie.

- **Inertie vis-à-vis de la substance active** :

L'excipient ne doit en aucun cas réagir avec la substance active, toute interaction entre les deux peut influencer l'effet thérapeutique (inhibition, majoration, toxicité).

- **Inertie vis-à-vis du matériau de conditionnement** :

L'excipient doit ni dissoudre des éléments des articles de conditionnement, ni inversement être absorbé par ceux-ci.

- **Inertie vis-à-vis de l'organisme** :

En principe l'excipient n'aucune activité propre ; ceci doit être vérifié pour les nouveaux excipients par des essais d'innocuité [5].

1.1.2.4. Caractéristiques du médicament :

Le médicament est produit industriel fini caractérisé par son nom et le commercial :

Aussi appelé marque de commerce, nom de marque ou nom de spécialité, le nom commercial est un nom enregistré portant généralement le symbole ® dans la documentation et la publicité. Ces noms sont réservés et ne peuvent être repris par d'autres. Ils peuvent varier

d'un pays à l'autre. Par exemple, un biphosphonate intraveineux composé d'acide zolédronique est nommé Aclasta® au Canada et Reclast® aux États-Unis. Enfin, un nom commercial est facile à retenir pour des raisons de marketing.

- **DCI ou dénomination commune internationale :**

Attribué par l'**Organisation mondiale de la Santé (OMS)** à la suite d'une demande déposée par le fabricant, le nom générique ou DCI identifie la ou les substances actives contenues dans le médicament. Mentionnons par exemple la warfarine sodique, le valsartan ou l'amiodarone. Reconnue mondialement, la DCI est identique dans tous les pays [6].

- **Son dosage :** la teneur (quantité) du principe actif contenue dans une unité de base.
- **Sa forme pharmaceutique** (ou forme galénique) : conditionne la voie d'administration et le mode d'utilisation.
 - Formes solides: comprimé, gélule.
 - Formes liquides: sirop, gouttes, suspensions buvable ou injectable.
 - Formes pâteuses: pommade gel, crème, suppositoires [7].

1.1.3. Classification des médicaments :

Plusieurs classifications peuvent être adaptées pour classer les médicaments.

1.1.3.1. Classification Thérapeutique :

Des médicaments de même classe thérapeutique partagent la **même indication** (une indication est la pathologie traitée par ce médicament) et donc le **nom de la pathologie**

doit faire partie du nom de cette classe. Ex: antiallergiques, antidiabétiques, anti-infectieux, antidépresseurs antiépileptique anticancéreux [7].

1.1.3.2. Classification Pharmacologique :

Des médicaments de même classe pharmacologique partagent le **même effet pharmacologique** (l'effet pharmacologique est la modification d'un état physiopathologique causé par un médicament). Ex: anti-inflammatoires, anticoagulants, antalgiques, antibiotique, hypoglycémiant [7].

1.1.3.3. Classification Chimique :

Des médicaments de même classe chimique partagent la même **structure chimique**. Ex: sulfamides, corticoïdes ont la même structure stéroïde

NB: on peut combiner 2 critères de Classification : Pharmaco-chimique: ex: Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) [8].

1.2. Présentation de Cefazoline :

1.2.1. Définition :

La Céfazoline est un antibiotique du groupe des céphalosporines pour administration parentérale. Elle exerce son action bactéricide en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire.

La Céfazoline est liée aux protéines sériques à environ 85 % [9].

Ce médicament est préconisé dans les infections bactériennes localisées ou généralisées à germe sensible, notamment dans les manifestations : ORL, broncho-pulmonaires, stomatologiques, urogénitales, ostéo-articulaires, cutanées, séreuses, septicémiques et endocarditiques.

Ce médicament est indiqué dans la prévention des infections post-opératoires en neurochirurgie (craniotomie, dérivation du LCR), chirurgie cardiaque, chirurgie thoracique non cardiaque, chirurgie vasculaire, chirurgie gastro-duodénale, chirurgie biliaire, césarienne, hystérectomie par voie abdominale et vaginale, chirurgie de la tête et du cou avec ouverture du tractus oropharyngé, chirurgie orthopédique avec pose de matériel.

1.2.2. Description :

- Poudre pour solution injectable ou pour perfusion.
- La Céfazoline acide est une poudre cristalline blanche à blanc cassé.
- Chaque flacon contient 1 g de Céfazoline correspondant à 1,048 g de Céfazoline sodique.
- Chaque flacon de 1 g contient environ 2,2 mmol (50,6 mg) de sodium [9].

- Céfazoline pour injection ne contient aucun agent de conservation.

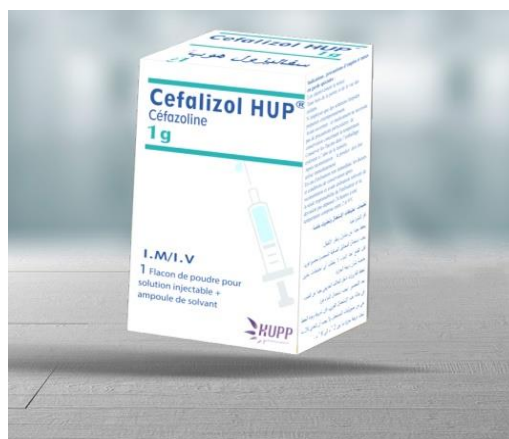


Figure 1: CEFALIZOL HUP 1g.

1.2.3. Structure et propriétés physico-chimiques :

Les propriétés physico-chimiques de Céfazoline sont récapitulées dans le tableau ci-dessous [9].

Tableau 1 : Quelques propriétés chimique de Céfazoline.

Nom propre	Céfazoline sodique
Nom chimique	(6R,7R)-7-(2-(1H-tetrazol-1-yl)acetamido)-3-((5-méthyl-1,3,4-thiadiazol-2-ylthio)méthyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate de sodium
Formule moléculaire	$C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$
Masse moléculaire	476,5 g/mol

La Céfazoline sodique est un solide, blanc à blanc cassé, pratiquement inodore. La Céfazoline sodique est librement soluble dans l'eau et très peu soluble dans l'alcool. Elle est pratiquement insoluble dans le chloroforme et l'éther. Son pH se situe entre 4,5 et 6,0 dans une solution aqueuse contenant 100 mg de Céfazoline par millilitre. Le point de fusion avec décomposition de la Céfazoline sodique se situe entre 229 et 231 °C [10].

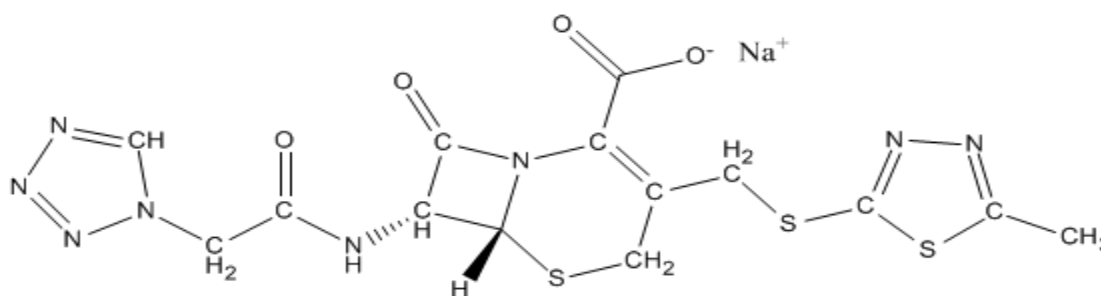


Figure 2 : Structure chimique du Céfazoline [9].

1.2.4. Propriétés pharmacologiques

1.2.4.1. Propriétés pharmacodynamiques

Classe pharmaco-thérapeutique: Antibactériens à usage systémique, autres bêta-lactamines, céphalosporines de première génération [10].

1.2.4.2. Mécanisme d'action

Toutes les céphalosporines (antibiotiques bêta-lactamines) inhibent la production de la paroi cellulaire et sont des inhibiteurs sélectifs de la synthèse des peptidoglycanes. La première étape du mécanisme est la liaison du médicament à des récepteurs cellulaires (protéines de liaison à la pénicilline). Après cette liaison, la réaction de la transpeptidase est inhibée, ce qui empêche la synthèse de peptidoglycane. Ce processus conduit à la lyse des bactéries [10].

1.2.4.3. Mécanisme de résistance

Les antibiotiques de type β -lactamines contiennent un cycle bêta-lactame qui est essentiel pour l'action antimicrobienne. Lorsque ce cycle est ouvert, il perd son effet antibiotique. Diverses bactéries possèdent des enzymes (bêta-lactamases) pouvant ouvrir le cycle, et ainsi, devenir résistantes à ce type d'antibiotique.

Comme avec toutes les céphalosporines et les autres bêta-lactamines, les différents mécanismes de résistance acquis par des groupes de bactéries sont: des changements de cibles (protéines de liaison à la pénicilline, (PLP), la dégradation enzymatique du cycle par les bêta-lactamases et une modification de l'accès à la cible. Il existe une résistance croisée entre céphalosporines et pénicillines. Les micro-organismes à Gram négatif contenant le chromosome inductible pour la bêta-lactamase, comme *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Citrobacter spp* et *Providencia spp* doivent être considérés comme résistants à la Céfazoline malgré la sensibilité *in vitro* [10].

1.2.4.4. Concentrations critiques des tests de sensibilité

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) établies par le Comité Européen sur les Tests de Sensibilité aux Antibiotiques (EUCAST) sont les suivantes:

Tableau 2: Concentrations critiques des tests de sensibilité [11].

Organisme	Concentration minimale inhibitrice (mg/l)		
	S	I	R
Staphylococcus spp.	Remarque 1	-	Remarque 1
Streptococcus A, B, C et G	Remarque 2	-	Remarque 2
Streptococci viridians	≤ 0,5	-	0,5
Concentration critique non liée à l'espèce	≤ 1		> 2

S = sensible, I = intermédiaire, R = résistant.

- **Remarque 1 :** La sensibilité des staphylocoques aux Céphalosporines est déduite de leur sensibilité à la Céfoxitine.

- **Remarque 2 :** La sensibilité des streptocoques bêta-hémolytiques A, B, C et G aux bêta-lactames est déduite de la sensibilité à la pénicilline.

1.2.4.5. Sensibilité microbiologique

La prévalence de la résistance acquise peut varier en fonction de la géographie et du temps pour certaines espèces. Il est donc utile de disposer d'informations sur la prévalence de la résistance locale, surtout pour le traitement d'infections sévères. Si nécessaire, il faut demander un avis spécialisé, notamment lorsque la prévalence locale des résistances est telle que l'utilisation d'un produit pour certaines infections peut être remise en question [11].

Tableau 03 : Espèces de sensibilité microbiologique [11] :

Espèces habituellement sensibles
Gram positif
<i>Staphylococcus aureus</i> (sensible à la méticilline)
Espèces pour lesquelles une résistance acquise peut survenir
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Streptococci</i> , groupe A, B, C et G ; β-haemolytique
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (sensible à la méticilline)
Espèces intrinsèquement résistantes
<i>Citrobacter</i> spp
<i>Enterobacter</i> spp (<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>)
<i>Morganaella morgani</i>
<i>Proteus stuartii</i>
<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Serratia</i> spp
<i>Staphylococcus</i> , résistant à la méticilline

Proteus spp indole positif
Klebsiella pneumoniae
Proteus mirabilis

1.2.4.6. Relation pharmacocinétique / pharmacodynamique

Pour les céphalosporines, le plus important paramètre pharmacocinétique/pharmacodynamique en corrélation avec l'efficacité *in vivo* est le pourcentage de l'intervalle de temps (T) pendant lequel la concentration de Céfazoline non liée demeure au-dessus de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les espèces cibles (c-à-d % T > CMI) [9].

1.2.5. Mode d'administration de Cefazoline

La solution reconstituée de Céfazoline sodique peut être administrée par voie intramusculaire ou intraveineuse [9].

1.2.5.1. Voie intramusculaire :

Injecter la solution reconstituée dans une grande masse musculaire. L'injection de Céfazoline sodique cause peu souvent de la douleur.

En pharmacologie humaine, les taux sériques de Céfazoline et la durée d'action après administration IM sont résumés dans le tableau suivant [11].

Tableau 4 : Durée d'action après administration IM [11].

Dosage (g)	Concentration sérique (µg/ml)					
	½ h	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h
0,25	15,5	17,0	13,0	5,1	2,5	
0,50	36,2	36,8	37,9	15,5	6,5	3,0
1,0	60,0	63,8	54,3	29,3	13,2	7,1

1.2.5.2. Voie intraveineuse

- Injection I.V directe (bolus) : Injecter lentement la solution dûment reconstituée pendant une période de 3 à 5 minutes directement dans une veine ou encore dans la tubulure chez les patients qui reçoivent des liquides parentéraux.

- L'administration de Céfazoline par perfusion IV (chez des volontaires sains) à une dose de 3,5 mg/kg pendant 1 heure, suivie d'une dose de 1,5 mg/kg au cours des deux heures suivantes, a permis d'obtenir des taux sériques d'environ 28 mg/ml dans la 3^{ème} heure [9].

Les concentrations sériques moyennes obtenues après administration par voie intraveineuse d'une dose unique de 1 g sont présentées dans le tableau suivant [11]:

Tableau 5 : Concentrations sériques [11].

Concentration sérique (µg/ml)					
5 min	15 min	30 min	1 h	2 h	4 h
188,4	135,8	106,8	73,7	45,6	16,5

La Céfazoline a une demi-vie moyenne d'environ 1,8 heure, augmentant à 15-30 heures en cas d'insuffisance rénale sévère et peut être plus élevée en cas d'anurie.

Les concentrations plasmatiques maximales obtenues après une dose de 1 g d'une perfusion IV sont de 63,6 mg/l et 188,4 mg/l et sont atteintes après 1 à 2 heures. La demi-vie est de 100 minutes.

En l'absence d'obstruction du canal biliaire, les concentrations de Céfazoline dans le tissu de la vésicule biliaire et de la bile sont élevées et nettement supérieures aux taux sériques.

La Céfazoline traverse facilement la barrière placentaire. Les taux de Céfazoline dans le lait maternel sont faibles.

Le taux de liaison aux protéines est de 85 à 90 % dans le sérum humain chez les volontaires sains.

La diffusion de la Céfazoline dans le liquide céphalo-rachidien est faible.

1.2.5.3. Elimination

La Céfazoline est principalement éliminée dans l'urine et un faible pourcentage dans la bile. Après administration par voie intramusculaire de 500 mg, le pourcentage d'élimination après la 6^{ème} heure est d'environ 56 à 89 %. Après 24 heures, ce taux augmente (80% à 100%) et la quasi-totalité de la Céfazoline est éliminée.

Après administration de 500 mg et 1 g, le pic de concentration urinaire de Céfazoline atteint respectivement 1000 et 4000 microgrammes/ml [12].

1.2.5.4. Perfusion intermittente ou continue

La solution reconstituée peut être administrée en même temps qu'un traitement visant une restauration liquidienne intraveineuse dans un système à contrôle de volume ou dans un contenant séparé pour perfusion intraveineuse [12].

1.2.6. Effets indésirables

Les effets indésirables suivants ont été observés lors des essais cliniques et dans les rapports de pharmacovigilance sur la Céfazoline sodique [12].

1.2.6.1. Troubles gastro-intestinaux

Diarrhée, candidose buccale (muguet), vomissements, nausées, crampes d'estomac, anorexie. Des symptômes de colite pseudomembraneuse peuvent apparaître durant le traitement. De rares cas de nausées et de vomissements ont été signalés [12].

1.2.6.2. Allergies

Anaphylaxie, éosinophilie, démangeaisons, fièvre médicamenteuse et éruptions cutanées comptent parmi les réactions allergiques peu fréquentes pouvant survenir [12].

1.2.6.3. Troubles hématologiques

Neutropénie, anémie, leucopénie, thrombocytémie et tests direct et indirect à l'antiglobuline (Coombs) positifs [12].

1.2.6.4. Troubles hépatiques et rénaux

Une augmentation transitoire des taux d'aspartate transaminase, d'alanine transaminase, d'azote uréique sanguin et de phosphatase alcaline a été observée sans manifestation clinique d'insuffisance hépatique ou rénale. Tout comme lors de l'emploi de certaines pénicillines et d'autres céphalosporines, on a quelquefois signalé des cas d'hépatite transitoire et d'ictère cholestatique [12].

1.2.6.5. Réactions locales

De rares cas de phlébite au point d'injection se sont produits. Les cas de douleur au point d'injection consécutive à l'injection intramusculaire sont peu fréquents. Des cas d'induration ont été signalés [12].

1.2.6.6. Autres réactions

Prurit vulvaire, candidose génitale, vaginite et prurit anal [12].

CHAPITRE 02:
PRÉPARATION
INJECTABLE ET
STÉRILISATION

2. Préparations injectables :**2.1. Définition :**

« Les préparations parentérales sont des préparations stériles destinées à être injectées, perfusées ou implantées dans le corps humain ou animal ».

« Les préparations parentérales peuvent nécessiter l'emploi d'excipients, par exemple pour assurer l'isotonie au sang, ajuster le pH, augmenter la solubilité, permettre la conservation de la (ou des) substance(s) active(s), assurer une action antimicrobienne. Ces excipients n'affectent pas l'action médicamenteuse recherchée et, aux concentrations choisies, ne provoquent pas de phénomènes de toxicité ou d'irritation locale notable » [2].

Les préparations injectables englobent :

- Les préparations pour perfusion.
- Les préparations à diluer pour injection ou pour perfusion.
- **Les poudres pour injection** ou pour perfusion.
- Les gels injectables.
- Les implants.

« Les poudres pour injection ou pour perfusion sont des substances **solides stériles**, réparties dans leurs récipients définitifs ; elles donnent rapidement, après agitation avec le volume prescrit d'un liquide stérile spécifié, soit une **solution** limpide et pratiquement exempte de particules, soit une **suspension** uniforme. Après dissolution ou dispersion, la préparation **satisfait aux exigences spécifiées pour les préparations injectables ou pour les préparations pour perfusion.**

Les substances **cryodes séchées** pour administration parentérale sont classées dans cette catégorie » [2].

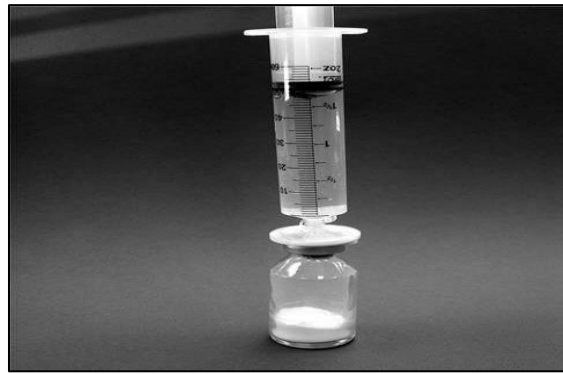


Figure 3: Poudre pour injection [9].

2.1.1. Différentes voies d'administration :

On distingue des voies d'administration majeures et des voies mineures :

2.1.1.1. Voies d'administrations majeures :

- **La voie intraveineuse** : Le médicament est administré directement dans la circulation sanguine générale → L'absorption est immédiate : **C'est une voie d'administration d'urgence.**
- **La voie intramusculaire** : Absorption moins rapide : le médicament doit diffuser du site d'injection vers la circulation sanguine.
- **La voie sous-cutanée** : ne permet l'administration que de faible volume.

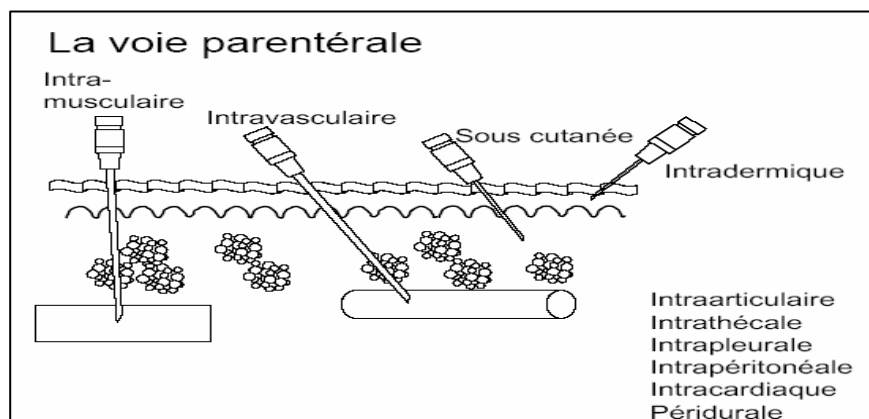


Figure 4 : Voies d'administration parentérales majeures [9].

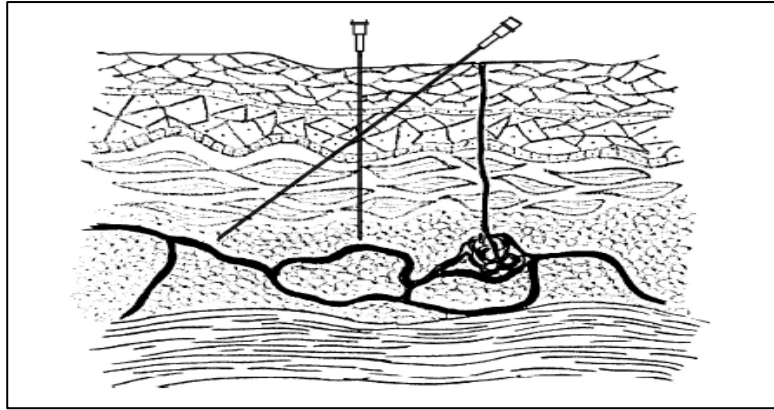


Figure 5: Injection sous cutanée [9].

- **La voie intradermique :** Constitue une très bonne voie pour la **stimulation de l'immunité** (injection des vaccins)

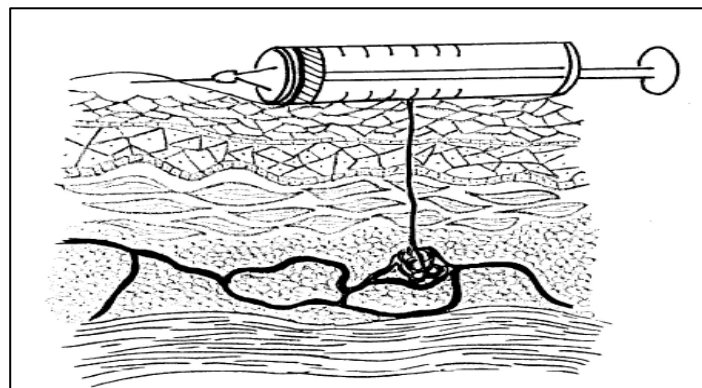


Figure 6: Injection intradermique [9].

2.1.1.2. Voies d'administrations mineures :

On peut citer quelques exemples des voies d'administrations comme :

- Intra-artérielle.
- Intra-articulaire.
- Intrarachidienne.
- Intracardiaque.
- Intraoculaire, etc..... [9].

2.1.2. Avantages et inconvénients des préparations injectables :

2.1.2.1. Avantages

- Rapidité d'action (immédiate pour la voie intraveineuse).
- Possibilité d'avoir une action locale (injection dans une région déterminée, ex: anesthésique local).
- assurer un taux sanguin exact → Absorption complète du médicament.
- Utilisée si les autres voies d'administrations ne sont pas possible (dégradation gastrique, effet de premier passage hépatique, trouble digestifs, patient inconscient, ..).
- Absence de dégoût du à l'odeur ou la saveur.

2.1.2.2. Inconvénients

- Exigences particulières : stérilité, absence de substances pyrogènes;
- Administration nécessite matériel adapté et personnel qualifié;
- Risque d'infection, de douleur (voie invasive), ou d'atteinte des nerfs, et des vaisseaux par voie IM [10].

2.1.3. Propriétés des préparations injectables

Les préparations injectables doivent répondre aux impératifs suivants :

- La limpidité ;
- La neutralité ;
- L'isotonie ;
- L'pyrogénicité ;

2.1.3.1. Limpidité

Le contrôle de la limpidité ne concerne que **les solutions** injectables. « Les solutions pour usage parentéral, examinées dans des conditions appropriées de visibilité, sont limpides et pratiquement exemptes de particules » [10].



Figure 7 : Solution injectable [10].

- **Origine des particules étrangères**

- Apportées par les récipients.
 - Introduites pendant le remplissage.
 - Apparaissent au cours de la conservation.
 - Introduites au moment de l'injection.
- Selon GROVES la contamination peut être attribuée, à deux causes principales :
- **Un « fond »** provenant des matières premières et des appareils servant à la fabrication : surtout des particules de petite taille.
 - **Une contamination accidentelle** poussières provenant de l'atmosphère extérieure ou détachées des récipients : sont souvent de grande taille [10].

- **Conséquences de la présence de particules étrangères**

Il n'y a pas de solution totalement dépourvue de particules, Cependant il faut savoir si celles-ci peuvent être nocives par voie parentérale :

- **Par voie sous-cutanée ou intramusculaire** : les particules, étant donné leur faible masse, sont digérées ou enkystées sans qu'il y ait de répercussions générales à craindre sauf un certain risque avec des particules de substances cancérogènes.
- **Par voie intraveineuse** : les accidents sont extrêmement rares mais ne sont pas sans inconvénients :
 - Peuvent causer l'occlusion de petits vaisseaux, et
 - Être à l'origine d'accidents graves (phénomène de choc, embolies, granulomes)
 - Poser des problèmes de toxicité à long terme chez des patients recevant des perfusions sur de longues périodes, (par exemple en nutrition parentérale) [10].
- **Élimination des particules étrangères**

La limpidité est assurée par filtration clarifiant sur filtre poreux entre 0.5 et 10 μ .

- Si la charge est importante : on utilise les filtres en profondeur : (inconvénient : cèdent eux-mêmes quelques particules (fibres), et doivent être suivies d'une plaque ou membrane qui n'en cède pas : verre fritté ou membrane d'ester de cellulose.
- Si la charge est faible : on utilise les filtres membranes.

2.1.3.2. Neutralité

Le pH des liquides de l'organisme (du sang, de la lymphe, du liquide céphalorachidien) est de l'ordre de 7,35–7,40 (proche de la neutralité).

On cherche donc, dans les préparations injectables, à ne pas trop s'éloigner de la neutralité.

- Il est important de prendre compte de la propriété de neutralité puisque le pH conditionne:
 - La tolérance par l'organisme (en particulier celles des hématies),
 - L'activité de la substance active [10].

- **Tolérance de l'organisme**
 - **Les préparations injectables non tamponnées**

Le sang possédant un pouvoir tampon tolère relativement bien l'injection de préparations ayant un pH allant de 4 à 10.

- **Les préparations injectables tamponnées**

Les solutions injectables tamponnées à un pH non physiologique sont moins bien tolérées. Ceci s'explique par le fait que les deux systèmes tampons, celui de la solution et celui des tissus (sang), vont entrer en compétition et le rétablissement de la neutralité dans l'organisme sera plus lent :

- Douleur plus durable.
- Risque de lésion tissulaire.
- Hémolyse.
- Thrombophlébite,....

- **Influence du pH sur la stabilité**

La plupart des substances actives possèdent un pH optimal de conservation

- Provoque la précipitation ou cristallisation du PA et par conséquent la formation de dérivés moins solubles.
- Racémisation des SA optiquement actives dont l'effet thérapeutique provient seulement d'une des formes optiques → diminution de l'effet thérapeutique (ex : L Adrénaline stable à pH =3).
- Auto-oxydation de certaines SA.
- Hydrolyse.

La tolérance et la stabilité d'un produit varient tous deux avec le pH et n'ont pas toujours leur maximum au même pH [10].

Alors il faut opter pour un compromis : choisir un pH qui ne soit pas trop mal toléré et qui assure cependant une stabilité acceptable pour le médicament.

- **Ajustement de la neutralité**

Les cas à envisager sont :

- Si la stabilité de la substance active exige *un pH non physiologique, il est préférable de ne pas tamponner* :
- Le pH serait ajusté à l'aide d'un acide ou d'une base, par exemples : les solutions injectables officinales d'insuline, d'adrénaline et de chlorure d'apomorphine sont simplement acidifiées avec de l'acide chlorhydrique.
- Si toutefois il est absolument nécessaire de tamponner parce que la zone de pH de stabilité est très étroite :
- On a recours à un mélange tampon à faible pouvoir tampon et à faible concentration.
- Il reste aussi la possibilité de présenter la substance active en poudre stérile à dissoudre, au moment de l'emploi, dans de l'eau pour préparation injectable ou une solution isotonique neutre .
- Si l'optimum de stabilité du principe actif se trouve dans une zone étroite de pH au *voisinage de la neutralité*, il y a intérêt à ajuster le pH avec une solution tampon.

Note: Dans le cas des grands volumes à perfuser, on évite dans la mesure du possible l'usage des tampons [10].

- **Contrôle de la Neutralité :**

- **Mesure du pH : Par les méthodes classiques :**

La mesure de pH est réalisée soit par le pH mètre+++ ou bien par les indicateurs colorés

- **Mesure du pouvoir tampon :**

Le principe consiste à mesurer la quantité de soude ou d'acide chlorhydrique à ajouter à la solution étudiée pour faire virer la couleur d'un réactif coloré convenablement choisi.

- **Essais de conservation :** à différentes températures en fonction du pH et en fonction des agents utilisés pour l'ajustement du pH. Les incompatibilités des principes actifs avec les acides, bases ou tampons ajoutés peuvent ainsi être détectées [10].

2.1.3.3. Isotonie :

- Le terme isotonie signifie qu'une solution se trouve en équilibre avec le milieu intérieur des globules rouges.
- **Quand est ce que l'isotonie est assurée ?**
- **Il y a isotonie si les hématies se trouvent en contact avec une solution à 9‰ de NaCl.**

Pour le démontrer, il suffit de placer des hématies en présence de solutions de chlorure de sodium à différentes concentrations :

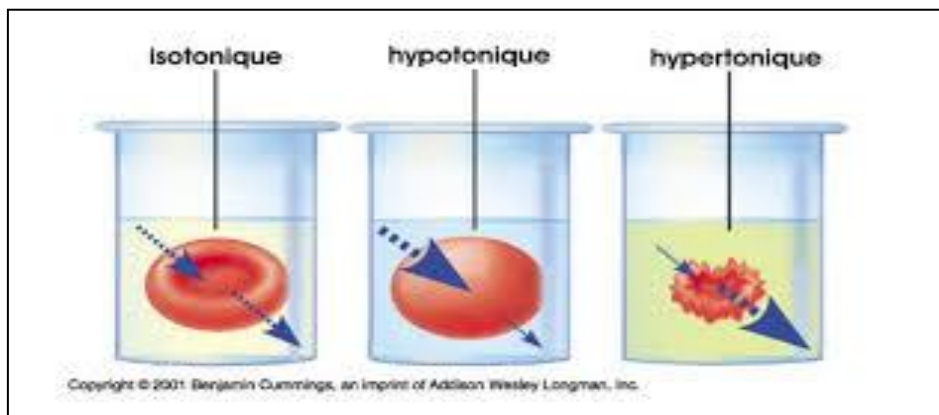


Figure 8 : Importance de l'isotonie des préparations injectables [4].

Si les hématies sont placées dans **une solution isotonique** (à 9 ‰ de NaCl) → pas de modification des globules rouges.

Si elles sont placées dans **une solution hypotonique** = moins concentrée (de l'ordre de 4 ‰ de NaCl), pour faire l'équilibre l'eau diffuse vers l'intérieur des hématies (considérées hypertoniques = plus concentrées en électrolytes) → hémolyse.

Si elles sont placées dans **une solution hypertonique** = plus concentrée (à 50 ‰ de NaCl), l'eau interne passe à l'extérieur de l'hématie → plasmolyse.

- **Importance de l'isotonie :**

L'isotonie des solutions au sang **permet le maintien de l'intégrité des cellules vivantes (hématies)** mises en contact avec ces solutions, Ceci est tout particulièrement important pour les solutions intraveineuses de manière à éviter l'hémolyse [4].

- **justement de l'isotonie :**

Pour les solutions hypertoniques → un étiquetage particulier altérant l'utilisateur des précautions d'emploi (injection lente par voie intraveineuse).

Pour les solutions hypotoniques → utilisation d'agents isotonisants :

La concentration d'un principe actif dans une solution médicamenteuse est rarement suffisante pour l'obtention d'une solution isotonique. Il faut ajouter des milliosmoles d'un sel (le plus souvent NaCl) ou d'un sucre (le plus souvent du glucose) qu'on appelle isotonisant pour avoir la concentration isotonique [4].

2.1.3.4. Apyrogénicité :

Une substance pyrogène est une substance susceptible de provoquer par injection une brusque élévation de température.

- **Observations cliniques :**

Une heure environ après l'injection Frissons intenses, cyanose, pouls rapide, dyspnée, température s'élevant à 40 °C, céphalée et troubles lombaires.

En général, tout rentre dans l'ordre entre 4 et 12 heures après l'injection.

- **Nature des substances pyrogènes: (elles sont d'origine naturelle) :**

- Les pyrogènes bactériens constituent la principale source (essentiellement sont issues de bactéries **gram-négatif**).
- Ce sont des endotoxines thermostables et résiste à l'autoclavage.
- Sont détruite seulement par la chaleur sèche élevée (180-200c°).
- Leur fraction lipopolysacharidique est responsable de l'accès fébrile [4].

- Les autres sources peuvent être des champignons inférieurs et des levures.
- **Source des substances pyrogènes :**
 - Le solvant.
 - Les substances dissoutes ou dispersées.
 - Le matériel utilisé.
- **Procédé d'élimination des substances pyrogènes :**

➤ **Adsorption sur charbon actif :**

C'est le procédé le plus classique. La solution est agitée pendant un moment avec du charbon activé qui retient assez bien les substances pyrogènes. Malheureusement, il peut retenir aussi une partie des principes actifs [5].

➤ **Filtration :** la filtration se fait par deux méthodes :

- Par adsorption sur des filtres en profondeur,
- Par ultrafiltration (membranes de porosité comprises entre 0,2 et 0,002 μm) retenant par criblage des grosses molécules organiques.

➤ **Chauffage en milieu acide ou alcalin :**

les substances pyrogènes sont sensibles à ce traitement, surtout en milieu alcalin, malheureusement celui-ci est difficile pour les solutions.

Tous ces procédés sont d'un intérêt très limité (Ils ne sont applicables qu'à solution avant sa répartition) [5].

Après conditionnement et stérilisation, un lot reconnu pyrogène n'est pas récupérable.

2.1.4. Conditionnement des préparations injectables :

Le conditionnement partie intégrante de la forme puisqu'il constitue une enceinte hermétique et inerte dans laquelle la préparation doit se conserver stérile, sans altérations ni modifications [5].

2.1.4.1. Critères d'un matériau de conditionnement pour préparation parentéral :

- Avoir une résistance physique suffisante (choc, chaleur).
- Imperméable permettant de protéger le médicament des agents extérieurs.
- Inerte vis-à-vis du contenu (ni adsorption, ni désorption).
- Innocuité absolue(ne doit pas céder des substances toxiques).
- Bien adapté à l'administration du médicament.
- Transparent de préférence.

2.1.4.2. Différents types de récipients utilisés dans les formes parentérales :

- Le verre de type I (neutre dans la masse) : pour les préparations parentéral et non parentéral, le sang humain et les produits du sang.
- Le verre de type II : pour les préparations acides et neutres pour usage parentéral.
- **Le verre type III** : préparations en véhicule non aqueux pour usage parentéral et les **poudres usage parentéral** [5].

2.2. Stérilisation :**2.2.1. Définition :**

La stérilisation est une opération qui a pour but de priver un objet ou un produit des micro-organismes qui le souillent, ces micro-organismes seront, selon le cas, détruits ou éliminés.

Les procédés utilisés et les précautions à prendre doivent être tels qu'en fin d'opération, la probabilité de trouver une unité non stérile doit être inférieure à **10⁻⁶**.

On stérilise pour éviter d'introduire dans l'organisme des germes, pathogènes ou non.

En pharmacie, il est nécessaire de stériliser :

- Des médicaments : préparations injectables, collyres, produits destinés à être appliqués sur certaines blessures et brûlures.

- Du matériel utilisé lors d'opérations chirurgicales (instruments, lingerie opératoire, fils à ligature).
- Les objets de pansement.
- Les tubes de recueil des prélèvements.
- La nourriture des immunodéprimés (voie entérale).
- Les prothèses et les drains.
- Ainsi que les locaux dans lesquels doivent être préparés aseptiquement des médicaments.

2.2.2. Opérations préliminaires de la stérilisation :

- **Vérification de la propreté de matériel à stériliser :** on ne stérilise que ce qui est propre, le nettoyage peut être manuel par des brosses ou des détergents, ou nettoyage par ultrason...
- **Vérification de l'état du matériel à stériliser :** les objets doivent être en bon état (risque d'emprisonnement des bactéries dans les rouilles, les trous, les déchirures).
- Choisir un conditionnement assurant le maintien de la stérilité du produit à stériliser lors de sa conservation jusqu'à son moment d'utilisation (peut être réalisé avant ou après la stérilisation).

2.2.3. Différentes méthodes de stérilisation :

Différentes méthodes de stérilisation sont définies par la Pharmacopée Européenne.

On peut classer les méthodes de stérilisation en deux grands groupes :

- **Pour les produits qui peuvent être stérilisés dans leur conditionnement définitif :**
 - Stérilisation par la vapeur d'eau.
 - Stérilisation par la chaleur sèche.
 - Stérilisation par irradiation.
 - Stérilisation par les antiseptiques gazeux.
- **Pour les produits qui ne peuvent être stérilisés dans leur conditionnement définitif :**
 - La filtration stérilisante.
 - La préparation dans des conditions aseptiques.

2.2.3.1. Stérilisation par les rayonnements :

Procédé à un essor industriel pour stériliser le matériel thermosensible (matériel médicochirurgical ou non réutilisable dans la pratique hospitalière).

Les rayonnements ionisants sont des rayonnements qui peuvent réagir avec un atome en isolant l'é de son orbital, créant ainsi un ion (+). ce phénomène d'ionisation est la conséquence d'un transfert d'énergie du rayonnement aux atomes irradiés [11].

2.2.3.2. Rayons ultraviolets :

Le pouvoir microbicide de ce rayonnement est très élevé. Malheureusement, il est surtout important pour les **courtes longueurs d'onde** qui présentent l'inconvénient d'être absorbées par la matière. Au-dessus de 3000 Å, les rayons U.V. sont pénétrants mais ne sont pas microbicides. Entre 2000 et 3000 Å, ils sont microbicides mais ne traversent que l'eau pure.

En deçà de 2000 Å, leur action microbicide devient considérable mais ils sont arrêtés par une mince couche d'eau [11].

- **Applications :** En Pharmacie, ce mode de stérilisation ne peut être appliqué aux préparations en ampoules ou en flacons car les rayons U.V. ne peuvent franchir les parois de verre ; il n'est utilisé que pour la stérilisation de l'**atmosphère** des enceintes stériles et aussi pour maintenir la stérilité de l'**eau distillée** conservée dans des cuves de stockage.

Pour la stérilisation de l'air, il est à noter que ces lampes à ultraviolet n'agissent qu'en rayonnement direct : il ne doit y avoir aucun obstacle entre les lampes et les germes à détruire.

Autre inconvénient, ils peuvent provoquer des accidents oculaires très graves ; les opérateurs doivent porter des lunettes protectrices.

2.2.3.3. Ionisants :

Le procédé fait appel soit à des rayonnements **électromagnétiques** de grande énergie (**rayons gamma**) soit à des rayonnements **corporeux** électroniques (**rayons bêta**).

Cette radiostérilisation est obtenue.

- Soit par des radioéléments, type Cobalt 60, qui émettent des photons gamma de 1,27 MeV d'énergie (rayonnement électromagnétique), **très bactéricides** et **très pénétrants**, ce qui rend leur emploi assez dangereux [11].

- Soit par des accélérateurs d'électrons qui émettent un rayonnement bêta: (rayonnement corpusculaire), l'unité ancienne est le rad (le méga rad étant le million de rad) ; actuellement, l'unité utilisée est le gray (1 gray = 100 rad), permettent d'obtenir un rayonnement électronique très puissant à des prix intéressants, avec les grandes intensités, une stérilisation s'effectue en une fraction de seconde, ce rayonnement est cependant moins pénétrant que celui des Cobalt 60.

Ce mode de stérilisation ne peut être réalisé au sein des laboratoires pharmaceutiques, qui doivent obligatoirement avoir recours à des centres spécialisés soumis à des dispositions législatives et réglementaires particulières [11].

La dose stérilisante dépend de la nature des microorganismes, de leur nombre initial et de la nature du milieu (l'oxygène par exemple augmente la radiosensibilité alors que les réducteurs et la déshydratation la réduisent).

La radio stérilisation du matériel médicochirurgical, du textile opératoire et des compresses, en raison de la nature du procédé, ne peut être réalisée que par un centre spécialisé.

Les matières à stériliser sont placées dans des conditionnements étanches, eux-mêmes placés dans des conditionnements en carton. À l'intérieur de ces cartons sont placés des dosimètres qui mesurent la dose de rayonnements reçue et des indicateurs biologiques pour contrôler l'efficacité bactériologique du traitement [11].

2.2.3.4. Irradiateurs à rayonnements X :

Le rayonnement X est produit par l'action d'un faisceau d'électrons accélérés sur une cible métallique.

La dose absorbée dépend de l'énergie du faisceau d'électrons, de la largeur de balayage et de la vitesse du convoyeur.

En routine, il convient de surveiller les éléments suivants :

- Enregistrement continu des caractéristiques du faisceau et de la vitesse du convoyeur.
- Dose absorbée.
- Distribution du produit et densité des matériaux [11].

CHAPITRE 03:
TÉCHNIQUES DE
CONTRÔLE DE
QUALITÉ

3. Contrôle qualité :**3.1. Définition :**

Le terme « contrôle » en général englobe toutes les vérifications qui se font sur une entité quelle que soit son origine (Matière, Matériel, Méthode, Milieu, Main d'œuvre ou Management).

Le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) définit le contrôle de la qualité comme étant la vérification ou le contrôle de la conformité aux spécifications. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) le définit, de façon plus détaillée, comme étant toute mesure prise incluant la mise au point de spécifications, l'échantillonnage, l'analyse, et le traitement des données analytiques, afin de confirmer que les matières premières, les produits intermédiaires, les articles de conditionnement et le produit pharmaceutique final pour assurer la conformité de ces substances aux spécifications établies [13].

3.1.1. Objectifs du contrôle de qualité :

Les objectifs du contrôle de la qualité des médicaments sont résumés dans six points :

- Confirmer la qualité des produits.
- Prévenir l'arrivée sur le marché de lots de qualité imparfaite.
- Détecter des défauts de qualité et engager des actions correctives ou préventives (retrait de lots ; modifications d'AMM ; inspections...).
- Contribuer au traitement des alertes de sante publique.
- Détecter des malfaçons.
- Contribuer à l'élaboration de nouvelles normes de qualité [14].

3.1.2. Contrôle physico-chimique :

Les contrôles physico-chimiques réalisés sur un médicament permettent de vérifier la

qualité pharmaceutique des médicaments mise sur le marché. Les contrôles de qualité sont essentiellement basés sur des analyses physico-chimiques [1], cet analyse consiste à :

- déterminer les caractères organoleptiques des différentes formes pharmaceutiques (Présentation, couleur...).
- identifier et doser le ou les principes actifs.
- déterminer la présence d'éventuelles impuretés et faire leur quantification.
- déterminer les caractères pharmaco-techniques en relation avec la forme Pharmaceutique (désintégration, dissolution, sécabilité, pH, osmolalité, taille des Particules...) [15].

3.1.3. Contrôle microbiologique :

Les tests microbiologiques se font sur les matières premières, les lots destinés à la stabilité (produit fini) ainsi que le contrôle de l'eau purifiée/potable utilisée dans le nettoyage du matériel de production. Ils portent sur le dénombrement des bactéries mésophiles, les Moisissures, les levures et de certaines bactéries spécifiques aérobies [16].

3.2. Techniques de contrôle de qualité physicochimique :

3.2.1. Mesure du pH :

3.2.1.1. Définition :

Le pH est une valeur qui exprime conventionnellement la concentration en ions d'hydrogène d'une solution aqueuse. Pour des raisons pratiques, sa définition est expérimentale. Le pH d'une solution à examiner s'exprime alors par rapport à celui d'une solution de référence (pH_s) suivant l'équation :

$$\text{pH} = \text{pH}_s - \frac{E - E_s}{k}$$

Dans laquelle E est la tension, exprimée en volts, de la cellule renfermant la solution à examiner, E_s la tension, exprimée en volts, de la cellule renfermant la solution de pH connu

(pHs) et k la variation de tension par variation d'une unité pH, exprimée en volts et calculée par l'équation de Nernst.

3.2.1.2.Principe :

La détermination potentiométrique du pH est effectuée par mesure de la différence de potentiel entre 2 électrodes judicieusement choisies plongeant dans la solution à examiner ; l'une de celles-ci est une électrode sensible aux ions hydrogène (le plus souvent, une électrode de verre) et l'autre une électrode de référence (par exemple, une électrode au calomel saturée).

3.2.3. Mesure de conductivité :**3.2.3.1. Définition :**

La conductivité k d'une solution ou, à proprement parler, sa conductance spécifique, est par définition l'inverse de la résistivité ρ . Celle-ci est définie comme le quotient du champ électrique par la densité de courant. La résistance R (en Ω) d'un conducteur de section S (en cm^2) et de longueur L (en cm) est donnée par l'expression :

$$R = \rho \frac{L}{S}$$

L/S correspond à la constante idéale de la cellule.

L'unité de conductivité dans le système international est le siemens par mètre ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$). Dans la pratique, la conductivité électrique d'une solution est exprimée en siemens par centimètre ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$) ou en microsiemens par centimètre ($\mu\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$).

3.2.4. Carbone totale organique :**3.2.4.1. Définition :**

Le dosage du carbone organique total (COT) est une méthode de mesure indirecte des substances organiques présentes dans l'eau pour usage pharmaceutique. Cette méthode peut

également servir à contrôler le déroulement de diverses opérations intervenant dans la préparation des médicaments.

3.2.4.2. Principe :

Oxydation complète en dioxyde de carbone des molécules organiques contenues dans l'échantillon d'eau, puis analyse quantitative du dioxyde de carbone produit et, à partir de la valeur obtenue, détermination par le calcul de la teneur en carbone de l'eau [17].

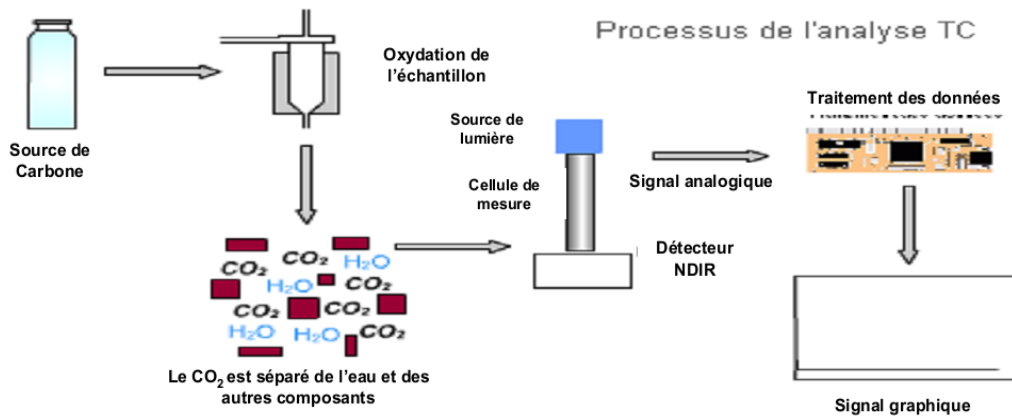


Figure 9 : Procédure d'analyse de COT [17].

3.2.5. Contamination particulaire :

Plusieurs méthodes de contrôle de la granulométrie sont utilisables mais la pharmacopée recommande deux:

- méthode 1 : essai de comptage des particules par blocage de la lumière.
- méthode 2 : essai de comptage des particules au microscope optique.

3.2.6. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) :

3.2.6.1. Définition :

La chromatographie liquide à haute performance est une forme moderne des méthodes chromatographiques, dont les intitulés sont rassemblés sous le vocable général de chromatographie liquide sur colonne, quel que soit le phénomène physique invoqué (adsorption, partage, échanges d'ions...). L'HPLC a la possibilité de séparer et d'identifier les

Composés qui sont présents dans tout échantillon qui peuvent être dissous dans un liquide en

Concentrations infimes d'ordre de partie par millier. Cette versatilité permet d'utiliser l'HPLC Dans une variété d'applications industrielles et scientifiques, comme: les produits pharmaceutiques, l'environnement, la médecine légale et les produits chimiques [18].

3.2.6.2. Principe de la méthode :

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [19].

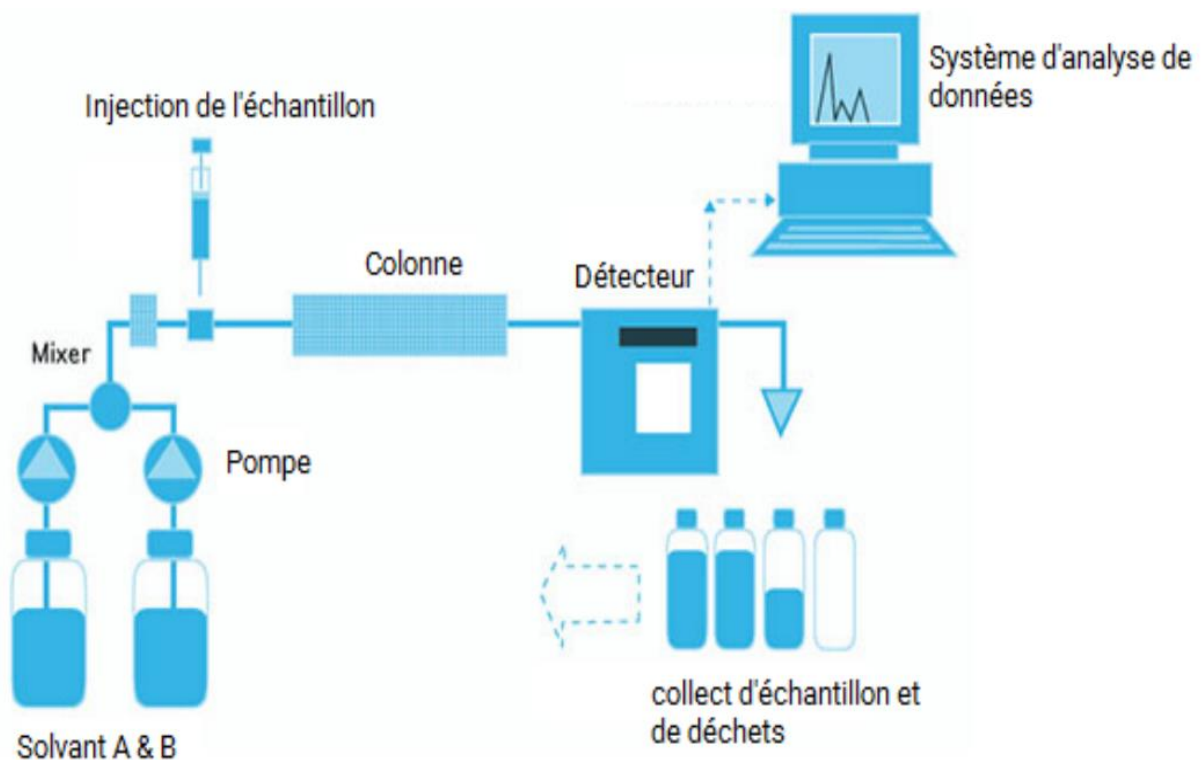


Figure 10: Conception générale d'un appareil d'HPLC [19].

3.2.7. Absorbance par spectrophotométrie UV-Visible :

Spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis) est une des techniques analytiques plus populaires, car elle est très polyvalente et capable de détecter presque chaque molécule. Avec la spectroscopie UV-Vis, la lumière UV-Vis est passée à travers un échantillon et la transmission de la lumière par un échantillon est mesurée (figure 10). De la transmission (T), l'absorption peut être calculée:

$$Abs = -\log(T)$$

Un spectre d'absorbance qui montre l'absorbance d'un composé à différentes longueurs d'onde est obtenu. Le montant de l'absorbance à une longueur d'onde est dû à la structure chimique de la molécule.

UV-visible peut être utilisé de manière qualitative, pour identifier les groupes fonctionnels ou de confirmer l'identité d'un composé en comparant le spectre d'absorbance. Il peut également être utilisé de manière quantitative, comme la concentration de l'analyse est liée à l'absorption à l'aide de la Loi de Beer-Lambert :

$$Abs = \varepsilon \cdot \ell \cdot C$$

Avec : ε est le coefficient d'extinction molaire ; ℓ est la longueur du solution traversé par la lumière et C est la concentration du solution à analyser.

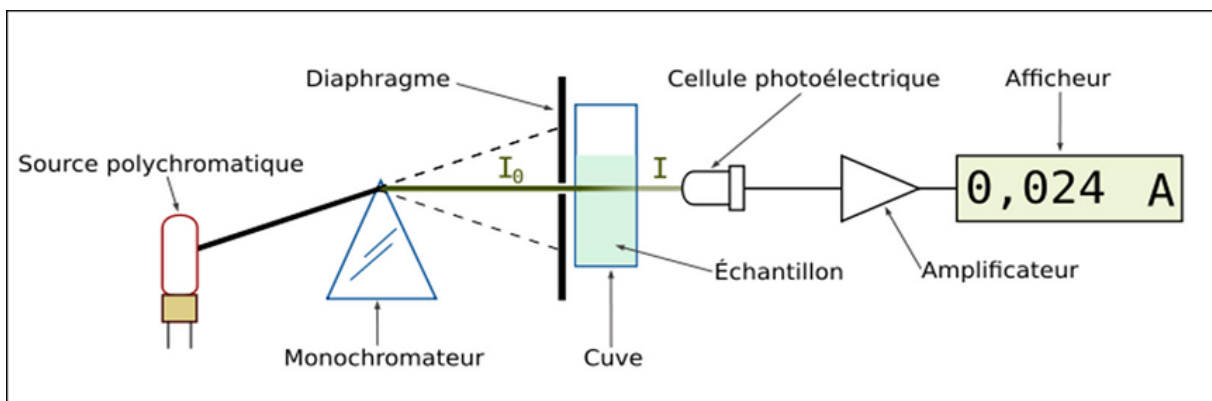


Figure 11: Principe de fonctionnement spectroscopie ultraviolet-visible [20].

Spectroscopie ultraviolet-visible est utilisée pour quantifier la quantité d'ADN ou de protéines dans un échantillon pour analyse de l'eau et comme un détecteur pour de nombreux types de chromatographie. Cinétique des réactions chimiques sont également mesurées par spectroscopie UV-visible en prenant des mesures répétées de l'UV-visible au fil du temps. UV-Vis sont généralement pris avec un spectrophotomètre. UV-Vis est également un

détecteur très populaire pour les autres techniques d'analyse, comme la chromatographie, parce qu'il peut détecter de nombreux composés [20].

CHAPITRE 04 :

Matériel

Et

Méthodes



4.1. Présentation de SARL HUPP (Human Product Pharmaceutical) :

Avant-gardiste dans le domaine de l'industrie pharmaceutique le groupe HUP PHARMA, dispose d'un portefeuille unique de 4 entreprises. Le groupe couvre ainsi les différentes branches de l'industrie pharmaceutique telles que la production de médicaments à usage humain et vétérinaire et la distribution. La **SARL HUPP** est une société algérienne spécialisée dans la production et le développement des médicaments génériques, Créée en Octobre 2011 par Mr. Belhadj Mostefa Toufik.

Grâce à sa politique de développement et à l'expansion de son réseau de distribution national et international à court terme, HUPPHARMA s'inscrit, depuis sa création, dans une dynamique de croissance forte. Près de 700 collaborateurs (employés), dont 80 % diplômés d'études supérieures, partagent aujourd'hui les valeurs du groupe. Outre son action en matière de développement humain, HUP

PHARMA conduit de multiples initiatives dans le cadre de son engagement pour la protection de l'environnement.

Fidèle à sa vocation de mécène, le groupe s'implique également dans les domaines de la culture, du patrimoine, de l'action humanitaire et de l'éducation et apporte son soutien aux jeunes créateurs.

En termes d'infrastructure HUP PHARMA se compose de 3 bâtisses séparées qui abritent 05 unités de production indépendantes (cinq autres unités sont en cours de réalisation) s'étalant sur une superficie de presque 10.000 m² logées à la zone industrielle Palma Constantine.

L'objectif de la société est de se développer, fabriquer et commercialiser des médicaments dotés d'une efficacité thérapeutique très haute, la gamme pharmaceutique HUP Pharma comprend pour le moment dix familles de produits dont les techniques de contrôle ont été validées par le Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP), on cite :

- Les cardiovasculaires.
- Infectiologie (antibiotique, antiviraux, antiparasitaire et antimycosique).

- Les gastro-entérologiques.
- Les anti-inflammatoires (stéroïdiens et non stéroïdiens).
- Les antidiabétiques oraux.
- Les antianémiques et vitamines.
- Neurologique.
- Rhumatologique.
- Urologique.
- Antiallergique.



Figure 12 : Industrie pharmaceutique HUPP PHARMA implantée dans la zone industrielle le Palma Constantine.

4.2. Contrôle qualité physico-chimique :

Cette partie aborde la méthodologie des contrôles physico-chimiques appliqués sur l'eau pour préparations injectables (EPPI) et a poudre de Céfazoline (CEFALIZOL® HUP), et les matériels correspondants à chaque contrôle.

4.2.1. Contrôle de qualité physico-chimique de l'eau pour préparations injectables (EPPI) :

Le contrôle de qualité physicochimique permet de assurer l'efficacité d'eau ppi .

4.2.1.1. Contrôle d'eau PPI en cour de production :

Ce test pour contrôler la bonne répartition d'eau ppi en cour de production et pour s'assurer qu'il n'est contaminateur par aucun agent étrangère en cour de production.

4.2.1.2. Caractère organoleptique :

- **Principe :**

Examen visuel de l'aspect et de la couleur de l'eau pour préparations injectables, ainsi la vérification de la présence des particules en suspension, étant donné que l'EPPI est limpide et exempt de particules.

L'eau doit être incolore (transparent).

4.2.1.3. Potentiel hydrogène (pH) :

Le pH est une grandeur sans unité. Un indice qui permet de mesurer l'activité de l'ion hydrogène dans une solution. Selon la pharmacopée 9^{ème} édition

- **Mode opératoire :**

Plonger les électrodes de pH-mètre dans la solution à examiner et effectuer la lecture du pH.

le pH de l'eau PPI doit être compris entre 5 et 7 à 20°C.

4.2.1.4. Conductivité :

La conductivité est proportionnelle à la quantité de sels ionisables présents, elle constitue donc un indicateur du degré de minéralisation de l'eau. La variation de température agit sur la conductivité car elle affecte la mobilité des sels.

Selon la pharmacopée la conductivité de l'eau PPI doit être inférieure à 1.1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20°C, elle est mesurée par un conductimètre.

4.2.1.5. Test de carbone organique totale :

La mesure de carbone organique total (COT) est un test non spécifique, qui ne permet pas de déterminer quels composés particuliers sont présents (la plupart des échantillons sont des mélanges complexes qui contiennent des milliers de composés de carbone organique différents). En revanche, la mesure du COT permet à l'utilisateur de connaître la quantité totale de carbone organique présente dans ces composés.

➤ **Mode opératoire :**

- **Préparation de la verrerie :** le nettoyage des verreries est obligatoire avant de commencer par une méthode permettant d'éliminer les matières organiques.

On utilise l'eau COT pour la phase finale de rinçage.

- **Solution étalon :** on dissout le saccharose R, préalablement séché à 105 °C pendant 3 h, dans de l'eau COT de façon à obtenir une solution à 1,19 mg de saccharose par litre (0,50 mg de carbone par litre).
- **Solution à examiner :** on met l'eau à examiner dans un récipient étanche, en prenant toutes les précautions requises pour éviter une contamination et en laissant un espace de tête aussi réduit que possible. Puis on procède à l'analyse dès que possible afin de réduire les risques de contamination par le récipient et le dispositif de fermeture.
- **Solution de conformité du système :** on fait dissoudre la molécule de 1,4-benzoquinone R dans de l'eau COT de façon à obtenir une solution à 0,75 mg de 1,4-benzoquinone par litre (0,50 mg de carbone par litre).
- **Témoin eau COT :** on prépare la solution étalon et la solution de conformité du système en utilisant de l'eau COT préparée en même temps que celle employée.
- **Solutions témoins :** En plus du témoin eau COT, on prépare aussi des solutions à blanc appropriées ou toutes autres solutions requises pour établir la ligne de base ou procéder à l'étalonnage suivant les instructions du fabricant.

4.2.1.6. Test de Nitrate :

L'ion de nitrate est la forme la plus stable de l'azote, il est formé par l'association d'un atome d'azote avec trois atomes d'oxygène (NO_3^-). L'OMS recommande, pour un adulte, de ne pas dépasser une dose journalière admissible de 3.65 mg / kg [11].

- **Méthode :**

- Dans un tube à essai on met 5ml d'eau ppi et 0.4ml de solution de chlorure de potassium (KCl) 100g/l, et 0.1 ml de solution de diphenylamine. Puis on le place dans l'eau glacée en rajoutant 5ml d'acide sulfurique exempté d'azote (goutte à goutte). Ensuite on le déplace dans un bain-marie à 50°C durant 15 min.

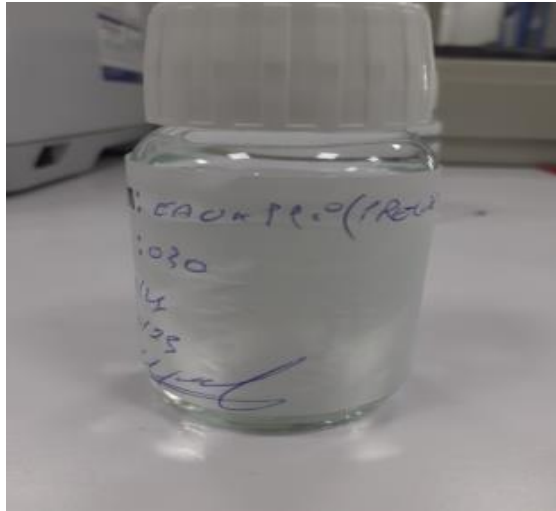


Figure 13 : Flacon d'eau PPI.

4.2.2. Analyse du solvant (EPPI) :

On va effectuer cette analyse pour assurer la bonne qualité d'ampoule d'eau ppi.

4.2.2.1. Essai du volume extractible d'eau PPI :

- On fait sélectionner puis on prélève 3 ampoules dans la totalité, le contenu de chaque ampoule sélectionnée.
- A l'aide d'une seringue sèche d'une capacité n'excédant pas 3 fois le volume à mesurer et munie d'une aiguille de 21 gauges d'une longueur d'au minimum 2.5 mm.
- On chasse les éventuelles bulles d'air de la seringue et de l'aiguille, puis on verse le contenu de la seringue, sans vider l'aiguille, dans une burette sèche (dont les graduations indiquent le volume contenu plutôt que le volume écoule) et d'une taille telle que le volume à mesurer occupe au moins 40 pourcent du volume gradué.
- Il est également possible de calculer le volume du contenu en millimètre en divisant la masse en grammes par la masse volumique).

La norme : la moyenne du volume extractible supérieure à 5ml.

4.2.2.2. Conductivité :

Selon la pharmacopée la conductivité de solvant d'eau PPI doit être inférieure à 25 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C, elle est mesurée par un conductimètre.

4.2.2.3. Test de Substances oxydables :

Ce test tente de prouver l'absence ou la présence des résidus organiques dans l'eau ppi pour usage pharmaceutique, Les matières organiques oxydables sont l'ensemble des substances dont la présence est susceptible de provoquer une consommation de l'oxygène dissous dans l'eau ppi, celle-ci résulte de l'action des bactéries qui naturellement en assurent la dégradation.

- **Réactifs / solvants / équipements :**

- Acide sulfurique : garde réactif.
- Permanganate de potassium : garde réactif.
- Plaque chauffante : équipement.

- **Solution de permanganate de potassium 0.02 M :**

- On prépare 50ml de permanganate de potassium par dissolution de 0.158 g dans une fiole avec l'eau purifiée.

- **Procédure :**

- On Chauffe à l'ébullition 100ml d'eau ppi avec 10 ml d'acide sulfurique dilue R.
- On ajoute 0.2 ml de permanganate de potassium 0.02 M et porter a l'ébullition pendant 5min.
- La solution reste légèrement rose.

4.2.2.4. Contamination particulière :

- **Particules non visibles :**

La détermination des particules non visibles se fait en appliquant la méthode 1 (essai de comptage des particules par blocage de la lumière) des particules non visibles.

- **Conformité du système :**

- On rince le matériel à l'intérieur en utilisant l'eau purifiée.
 - On détermine la contamination particulaire de 5 échantillons d'eau purifiée, de 5ml chacun en suivant le mode opératoire.
 - Le système n'est conforme que si le nombre de particules de 10 μm ou plus est inférieur à 25 pour les 25 ml réunis.
- **Mode opératoire :**
 - On verse le contenu de 10 unités ou plus est réunis dans un récipient nettoyé de façon à obtenir un volume d'eau minimum 25 ml.
 - On élimine les bulles de gaz en laissant reposer la solution pendant 2 minutes ou en appliquant un traitement à l'ultrason.
 - Norme : nombre de particules $\geq 10\mu\text{m}$ n'est pas supérieur à 6000.
 - Nombre de particules $\geq 25 \mu\text{m}$ n'est pas supérieur à 600.



Figure 14 : Ampoule de solvant d'eau PPI

4.2.3. Analyse de la poudre pour injection CEFALIZOL HUP 1g :

4.2.3.1. Solution constituée :

- On constitue le contenu d'un flacon du **CEFALIZOL HUP 1g** dans 10ml d'eau PPI.

- la poudre se dissout complètement et ne laissant aucun résidu visible en tant que matière non dissoute.

- la solution constatée n'est pas significativement moins nette qu'un volume égal du diluant ou de l'eau purifiée contenue dans un récipient similaire et examinée de manière similaire.

4.2.3.2. Rotation spécifique :

- **Principe :**

- Le pouvoir rotatoire est la propriété que présentent les substances chirales de dévier le plan de polarisation de la lumière polarisée.

- Le pouvoir rotatoire est considéré comme positive (+) dans le cas de substances dextrogyres (c'est-à-dire, celles qui dévient le plan de polarisation dans le sens des aiguilles d'une montre), et négative (-) dans le cas de substances lévogyres.

- Le pouvoir rotatoire spécifique est la rotation, exprimée en radiation (rad), mesurée à la température t et à la longueur d'onde λ , donnée par une couche de 1 m d'épaisseur d'un liquide ou d'une solution contenant la substance optiquement active à raison de 1 kg/m de solution.

- **Réactifs/ solvants / équipements :**

- Bicarbonate de sodium : grand réactif

- Eau : eau purifiée

- polarimètre : équipement

- **Solution bicarbonate de sodium 0.1 M :**

On dissout 8.4 g de bicarbonate de sodium dans 1000 ml d'eau.

- **Procédure :** solution 55mg/ml.

- On dissout dans la fiole 50ml 2.75g de CEFALIZOL HUP 1g.

- On dissout dans la solution Bicarbonate de sodium 0.1M.
- On effectue la lecture dans le polarimètre à 25°C.
- Norme : (- 10 a -24).

4.2.3.3. Potentiel d'hydrogène pH :

- Selon la pharmacopée 9^{ème} édition :
 - On va mesurer le pH de la solution reconstitué 2.5g de CEFALIZOL HUP 1g dans 25 ml d'eau purifiée.
 - La mesure est effectuée par un pH-mètre.
 - Normes : 4.0 – 6.0.

4.2.3.4. Masse moyenne :

- On va mesurer dans la balance la masse de 20 flacons de CEFALIZOL HUP 1g remplée et vide de lot 078.
- en suite on va calculer la masse de poudre est la moyenne.

4.2.3.5. Variation de masse :

- On va déterminer sur 10 flacons la masse de répartition en procédant par différence entre la masse de flacon plein et la masse du flacon vide.

$$X_i = M_i \times \frac{T\%}{M_m}$$

La norme de masse doit être inférieure ou égale 15 g.

4.2.3.6. Contamination particulaire (comptage de particule) :

- La contamination particulaire des préparations injectables et des préparations pour perfusion est composée des particules étrangères, non dissoutes et mobiles, autres que des bulles de gaz, qui ont été involontairement introduites dans ces préparations.

- Pour la détermination de la contamination particulaire, on utilise :

Méthode 1 : essai de comptage des particules par blocage de la lumière :

- **Particules visibles :**

La solution injectable doit être exempte des particules visibles à l'œil nu (contrôle visuel).

- **Particules non visibles :**

- **Conformité du système :**

- On rince le matériel à l'intérieur en utilisant l'eau purifiée.
- On détermine la contamination particulaire de 5 échantillons d'eau purifiée, de 5ml Chacun en suivant le mode opératoire décrite ci-dessous.
- Le système n'est conforme que si le nombre de particules de 10 μm ou plus est inférieure à 25 pour Les 25 ml réunis.

- **Mode opératoire :**

- Le contenu de 10 unités ou plus est réunis dans un récipient nettoyé de façon à obtenir un volume d'au minimum 25 ml.
- On élimine les bulles de gaz en laissant reposer la solution pendant 2 minutes ou en appliquant un traitement à l'ultrason.
- Norme : nombre de particules $\geq 10\mu\text{m}$ n'est pas supérieure à 6000.
- Nombre de particules $\geq 25 \mu\text{m}$ n'est pas supérieure à 600.



Figure 15 : Appareil de comptage des particules.

4.2.4. Testes d'identification :

4.2.4.1. Identification de Céfazoline par HPLC :

On utilise dans ce test la technique de chromatographie liquide (CL) :

La chromatographie liquide (CL) est une technique de séparation chromatographique reposant sur la distribution différentielle des espèces entre deux phases non miscibles, une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile liquide qui traverse, par percolation, cette phase stationnaire. La CL est principalement fondé sur les mécanismes d'adsorption, de distribution de masse, d'échange d'ions, d'exclusion ou d'interaction stéréochimique.



Figure 16 : Appareille d'HPLC.

4.2.4.2. Teneur en Céfazoline sodium (par HPLC) :

- Préparation de la phase mobile :

- **Tampon A** : On dissout 0.9g de phosphate de sodium dibasique anhydre et 1.298g d'acide citrique monohydrate (K_2HPO_4) dans 1000 ml. Le ph est à 3.6.

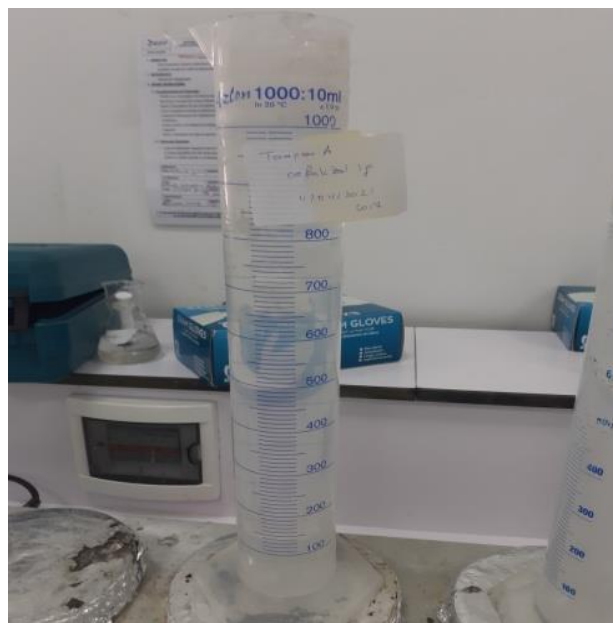


Figure 17 : Solvant de Tampon A.

- **Tampon B** : On dissout 5.68g de phosphate de sodium dibasique anhydre et 3.63g de phosphate de Potassium Monobasique dans 1000ml. le ph 7.0.

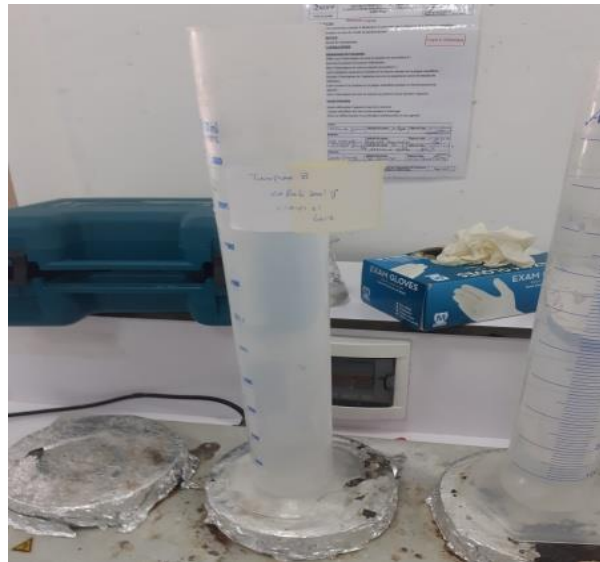


Figure 18 : Solvant de Tampon B.

La phase mobile : Acetonitrile / tampon A.

- **Conditions chromatographique :**

- Colonne : C18 (300×4.0) mm 10µm (ou équivalent).
- Débit : 2ml/min.
- Volume d'injection : 10µl.
- Détection : UV254 nm.
- Température : ambiante.

- **Standard interne :**

- Dans une fiole jaugée de 100ml on pèse 750mg d'acide salicylique dissous dans 10ml du méthanol, puis on complète le volume avec le tampon B.



Figure 19 : Solvant de standard interne.

- **Solution témoin :**

- Dans une fiole jaugée de 10ml on pèse 10mg de Céfazoline SCR dissous dans le tampon B et on complète le volume avec le même solvant jusqu'au trait de jauge.
- On transfère 5ml de cette solution dans une fiole de 100ml.
- On ajoute 5ml de solution standard interne et on dilue le volume avec le même solvant.
- On filtre la solution avec un filtre nylon 0.45 μ m (millipore ou équivalent).

- **Solution à examiner :**

- On verse le contenu de l'ampoule d'eau PPI dans le flacon de CEFALIZOL HUP 1g.
- On prélève 1ml de cette solution puis on mélange la quantité prélevée avec une solution tampon B dans une fiole de 200ml.
- On transfère 5ml de cette solution dans une fiole de 100 ml.
- On ajoute 5ml de solution standard interne et on dilue avec le même solvant.
- On filtre sur un filtre nylon 0.45 μ m (Millipore ou équivalent).

- **Système de stabilité :**

- Solution témoin.
- Note : les temps de retentions relatives de l'acide salicylique et Cefazoline sont 0.7 et 1.0 Respectivement.



Figure 20 : Solutions essais et standard après dilution.

- **Système de conformité :**

- RSD des 5 injections du témoin est inférieure à 2.0%.
- La résolution entre le pic de l'acide salicylique et le pic de Cefazoline est supérieure à 4.
- Nombre de plateaux théorique : supérieur à 1500 plateaux théoriques.
- Tailing factor : inférieure à 1.5.

$$RSD = \frac{\text{ecart type}}{\text{la moyenne}} \times 100$$

4.2.4.3. Identification de Céfazoline par spectrophotomètre UV-visible :

- **Réactifs/ solvants / équipement :**

- Bicarbonate de sodium : grande réactifs.

- Eau : eau purifiée.
- U.V-visible : équipement.
- **Préparation des solutions :**
 - Bicarbonate de sodium 0.1M :
 - On dissout 8.4g de bicarbonate de sodium dans 1000 ml de l'eau.
 - Solution témoin :
 - On dissout 10mg de Céfazoline SCR dans 50ml de la solution bicarbonate de sodium 0.1M.
 - On prélève 10ml de cette solution et on dilue à 100ml avec le même diluant.

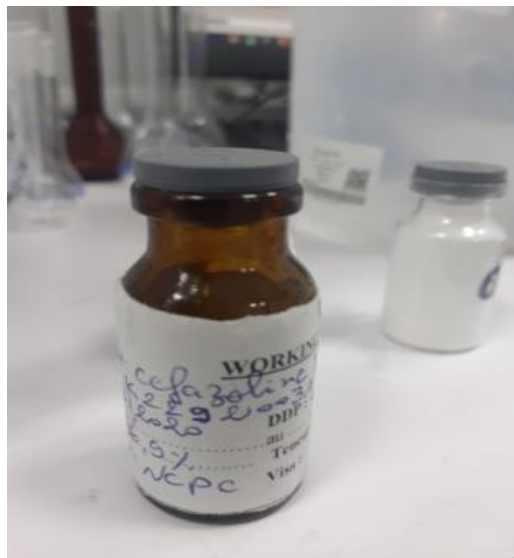


Figure 21 : Flacon de Céfazoline SCR.

- **Solution essai :**
 - On dissout 20 mg de CEFALIZOL HUP 1g dans 100 ml de la solution bicarbonate de sodium 0.1M.
 - On prélève 10ml de cette solution et on dilue à 100ml avec le même diluant.

- On effectue la lecture des solutions à UV-visible à la longueur d'onde entre 200 nm et 400 nm.
- On compare le spectre d'absorption ultraviolet de la solution essai et de la solution témoin présente des maximums d'absorption aux mêmes longueurs d'ondes.

4.2.4.4. Teneur en eau (par Karl Fisher) :

- Le titreur Karl Fisher est utilisé pour la détermination de la teneur en eau ou la concentration d'eau en pourcentage dans la poudre de Céfazoline (pas dépasser 6 %).
 - La teneur en eau dans la poudre de Céfazoline détermine le pouvoir de libération de ses composants actifs, elle joue aussi un rôle déterminant à leurs propriétés chimiques, physiques, microbiennes et leur capacité de stockage.
- **Principe :**
 - On utilise le principe de l'oxydation du dioxyde de soufre par l'iode en présence d'eau.
 - **Méthode :**
 - On pèse 100 mg de la poudre de Céfazoline puis on dissout la poudre dans la cuve de l'appareil de Karl Fisher et on effectue la lecture.



Figure 22 : Karl Fisher.

4.3. Contrôle qualité microbiologique :

Le but de cette analyse est de contrôler le niveau de la contamination bactérienne d'un produit obligatoirement stérile «poudre de Céfazoline » par le test de stérilité et par la méthode de dénombrement pour l'eau ppi.

4.3.1. Analyse de l'eau PPI :

La pharmacopée précise que, tout au long de la production et la conservation de cette eau, toutes les mesures nécessaires doivent être prises pour que le nombre de germes aérobies viables soit convenablement maîtrisé et contrôlé. Le seuil d'alerte étant de 10 UFC/ml [1].



Figure 23 : Rampe de filtration.

Le dénombrement est déterminé par filtration de 200 ml d'eau ppi à l'aide d'une rampe de filtration sous vide, sur membrane filtrante de $0.45\mu\text{m}$ de porosité qui seraensemencée par la suite sur la gélose R2A.



Figure 24 : Rampe à filtration sous vide + la membrane filtrante [23].

- Tout matériel utilisé doit être préalablement stérilisé : les accessoires de la rampe sont stérilisés par chaleur sèche dans l'étuve à 180°C pendant 30 min, la pince est stérilisée par flambage ou alcoolisation. Les boîtes sont ensuite incubées à 32°C pendant 5 jours. Les manipulations sont faites sous une hotte à flux laminaire.
- Après l'incubation on fait un ensemencement dans la gélose TG à 32.5°C pour la détection des bactéries, et dans la gélose TSB à 22.5°C pour la détection des champignons pendant 14 jours.

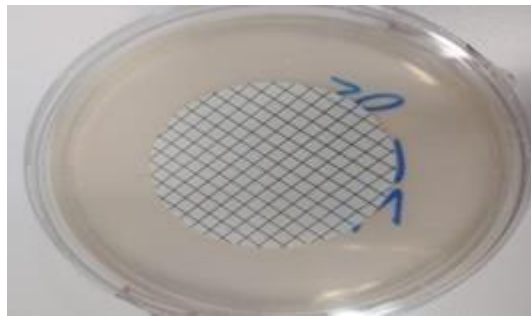


Figure 25 : Membrane filtrante après filtration, ensemencement et avant incubation.

4.3.2. Analyse du CEFELIZOL HUP 1g :

Le but de ce test pour assurer la bonne qualité microbiologique de la poudre de Céfazoline et l'absence totale des germes pathogènes.

4.3.2.1. Méthodes utilisées pour l'examen microbiologique « Méthode de stérilité » :

- **Préparation des milieux de culture :**

On a procédé à la préparation de 2 milieux, afin d'effectuer le test de stérilité on a préparé les 2 milieux suivants:

- TSB : (de la marque PRONADISA), pour la détection des champignons.
- TG : pour la détection des bactéries.

- **Méthode de préparation des milieux de culture :**

Sur la balance électrique on pèse chaque milieu sous sa forme déshydratée, l'eau purifiée est ajoutée jusqu'au volume souhaité, puis la dissolution du milieu est assurée en plaçant le bêcher sur la plaque et en ajoutant les barreaux magnétiques, le pH est ajusté si nécessaire avant chauffage et cuisson. Après cuisson du milieu, on le répartit dans:

- Des flacons de 100ml pour les milieux liquides.
- Des flacons de 500ml pour les milieux gélosés et les solutions.

Les flacons sont étiquetés et prêts à être stérilisés dans l'autoclave. Une fois stériles, ils sont conservés dans un réfrigérateur jusqu'au moment d'utilisation.

Remarque : Après la préparation et avant l'autoclavage de chaque milieu le pH doit être mesuré après dissolution complète du milieu, ce pH doit être équivalent à la valeur mentionnée sur l'emballage de chaque milieu. Dans le cas contraire, on ajoute le HCl pour diminuer le pH ou le NaOH pour l'augmenter.

4.3.2.2. Test de stérilité :

Ce test est spécifique pour les produits injectables qui confirment l'absence totale des germes (0 UFC) selon les normes de la pharmacopée 9eme édition.



Figure 26 : Montage de stérilite [24].

- **Méthode :**

- On a prélevé 10 flacons de CEFALIZOL HUP 1g, et en suite en va faire un

- ensemencement sur milieu liquide de chaque flacon dans des fioles de 5ml couler par le fluide D (300 ml).
- On a prélevé 2.5 ml de chaque fiole (10 fioles), donc le volume total prélevé égale à 25 ml, la totalité a été versée dans une fiole de 100 ml et complétée par 75ml de fluide D.
 - on a fait le rinçage des 2 canistaires de la stérilitest avec le fluide D 300ml.
 - après on a divisé la solution de la fiole de 100ml (produit + fluide) par les 2 canistaire 50ml de chaqu'un.
 - on a coulé les 2 milieux TSB et TG dans les 2 canistaires.
 - On a incubé le canistaire de TSB à 22.5°C et le canistaire de TG à 32.5° pendant 14 jours pour effectuer la lecture.



Figure 27 : Canistaires de stérilité [25].

CHAPITRE 05 : RÉSULTATS ET DESCUSSION



Résultats et discussions

Dans ce chapitre, on va présenter les résultats obtenus par le contrôle qualité de l'eau pour préparations injectables (EPPI) et la poudre de Céfazoline (CEFALIZOL® HUP 1g) du lot testé (078) et leurs interprétations, afin de déterminer leurs conformités par rapport aux normes de la pharmacopée européenne 9ème édition.

5.1. Analyse physico-chimique :

5.1.1. Contrôle physicochimique de l'eau ppi en cour de production :

Les résultats sont présentés dans le tableau (6) :

Tableau 6 : Résultats des analyses physicochimiques sur l'eau ppi (EPPI).

Test	Résultat	Norme	Conformité
Caractère Organoleptique	incolore	incolore	Conforme
pH	6.5	Entre 5 et 7	Conforme
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	0.47	<1.1	Conforme
Carbone organique Totale (ppb)	432	≤ 500 ppb	Conforme
Nitrate	Couleur bleue claire	une couleur bleue moins intense que celle du blanc.	Conforme

D'après le **tableau (6)**; le pH = 6.5, il est compris dans l'intervalle [5-7] de même, la conductivité égale à 0.47 $\mu\text{S}/\text{cm}$ et cela inférieur à 1.1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (nul besoin de faire le test des métaux lourds pour ce dernier cas).

Pour le test de nitrate, la couleur bleue claire de l'essai est moins intense que celle du blanc, ce qui prouve que le test est conforme.

Par conséquent, l'eau ppi est conforme aux normes de la Pharmacopée Européenne 9eme édition.

5.1.2. Analyses physico-chimique du solvant (EPPI) :

Tous les résultats obtenus sont comparés avec les normes précisées par la Pharmacopée Européenne 9^{ème} édition afin de déterminer la conformité du l’ampoule d’eau ppi.

5.1.2.1. Essai du volume extractible d’eau PPI :

On a trouvé que la masse de fiole d’eau purifiée égale à 18.69 mg. Tandis que la masse de fiole d’eau ppi est égale à 18.65 mg.

La densité et le volume sont calculés par les relations suivantes :

$$\text{La densité} = \frac{m(\text{eau purifier})}{m(\text{EPPI})} = \frac{18.69}{18.65} = 1.002.$$

$$\text{Volume} = \frac{\text{la masse d'ampouleEPPI}}{\text{densite}}$$

Tableau 7 : Résultats du volume extractible d'eau ppi (EPPI).

La masse	Le volume	Norme	Conformité
m 1 = 5 mg.	V 1 = 4.99.	≥ 5ml	Conforme
m 2 = 4.75 mg.	V 2 = 4.74.		
m 3 = 4.83 mg.	V 3 = 4.82.		
M moy = 4.86	V moy = 4.85.		

D’après le tableau (7); le volume moyenne est égale 4.85, il est inferieure a 5 ml qui indique le test elle est Conforme.

Tableau 8 : Résultats des analyses physicochimiques sur le solvant EPPI.

Test	Résultat	Norme	Conformité
Caractère	incolore, liquide et limpide	incolore, liquide et limpide	Conforme
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	4.42	≤ 25	Conforme
Substances oxydables	Solution rose claire	La solution reste légèrement rose	Conforme

D'après le **tableau (8)**; la conductivité égale à $4.42 \mu\text{S}/\text{cm}$ et cette valeur est inférieure à $25 \mu\text{S}/\text{cm}$ elle est sur les normes même que l'aspect de l'ampoule on a un solvant incolore, liquide et limpide.

Pour le test de substances oxydables. La couleur est légèrement rose atteste de la conformité du test des substances oxydables. En principe, le MnO_4^- oxyde les substances oxydables en donnant le Mn^{2+} incolore à la fin de la réaction, mais la présence de la couleur rose indique la non transformation de MnO_4^- en Mn^{2+} et donc l'absence des substances oxydables, ce qui prouve que le test est conforme.

5.1.2.2. Contamination particulière :

Cette méthode consiste à déterminer les particules étrangères présentes dans les ampoules d'eau ppi, les résultats présentant dans les tableaux suivants :

Tableau 9 : Résultats des testes d’environnement.

Essai eau ppi	La région de lecture [10 - 400]
Essai 01 eau ppi	6
Essai 02 eau ppi	3
Essai 03 eau ppi	4
Essai 04 eau ppi	7
Essai 05 au ppi	3
La somme	23
Norme	< 25

D’après le tableau (9), la somme des tests d’essais sur l’appareil de comptage particulière est sur les normes < 25, ce qui détecte que le test d’environnement elle est conforme, est l’appareil de comptage elle est prêt pour le test d’essai.

Tableau 10 : Résultats des testes d’essai.

Essai	La région de lecture	
	[10-400]	[25-400]
Essai 01	655	25
Essai 02	365	68
Essai 03	250	43
La moyenne	423	45
Norme	<6000	<600

D’après le **tableau (10)**, la moyenne des tests d’essai des ampoules est sur les normes dans les 2 régions de lecture, ce qui prouve que le test est conforme est notre solvant d’eau ppi elle est en bonne état.



Figure 28 : Flacon de CEFALIZOL HUP 1g.

5.1.3. Analyses de poudre pour injection (CEFALIZOL HUP 1g) :

Pour confirmer la nature de molécule de notre poudre de Céfazoline, il faut contrôler les deux caractères, qui sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Résultats d'analyses physico-chimique de CEFALIZOL HUP 1g.

Test	Résultats	Norme	Conformité
Rotation spécifique	-14.3 unité	[-10 a 24] unité	Conforme
pH	4.96	Entre 4 et 6	Conforme

D'après le **tableau (11)**; le pH égale à 4.96, il est compris dans l'intervalle [4-6], indique que la poudre de Céfazoline elle est conforme.

La rotation spécifique est égale à -14.3 unité, ce résultat est négative indique que notre molécule de Céfazoline c'est une substance Lévoogyres (L).

5.1.3.1. Uniformité de masse et masse moyenne :

Après la pesée de (20) flacons vide et plein de produit , on a déterminé la masse de poudre par la différence entre les masse de flacon plein est vide, les résultats obtenu sont présentés dans le tableau (12) :

Tableau 12 : Résultats d'uniformité de masse de CEFALIZOL HUP 1g.

flacons	La masse de flacon plein (g)	La masse de flacon vide (g)	La masse de poudre (g)	La masse moyenne	Norme	Conformité de masse moyenne			
01	12.07	11.02	1.05	1.0405 g	[0.943 g - 1.152 g]	conforme			
02	11.99	10.92	1.07						
03	12.00	10.98	1.02						
04	12.11	11.17	0.85						
05	12.04	11.01	1.1						
06	12.04	10.97	1.03						
07	12.13	11.06	1.04						
08	12.07	10.97	1.02						
09	11.99	11.03	0.97						
10	12.03	11.02	1.02						
11	11.92	10.88	1.03						
12	12.12	11.01	0.99						
13	12.10	11.07	1.08				1.04	[0.943g - 1.152g]	conforme
14	12.09	11.04	1.07						
15	12.11	11.07	1.03						
16	12.15	11.12	1.05						
17	11.89	10.78	1.04				1.0405 g	conforme	
18	11.86	10.87	1.03						
19	11.97	10.96	1.07						
20	12.17	11.07	1.03						

Les résultats démontrent que les masses moyenne (**1.0405 g**) sont comprises dans l'intervalle exigé par la Pharmacopée Européenne (**0.9432g –1.1528g**) et de ce fait l'homogénéité des flacons et la conformité des résultats.

5.1.3.2. Variation de masse :

On va déterminer la variation de masse par la loi :

$$X_i = m_i \times \frac{T\%}{M_m}$$

Sachant que :

M_i : la masse individuelle de chaque flacon.

M_m : la masse moyenne de la poudre des 10 flacons.

T% : titre de Céfazoline déterminé dans l'essai en %.

Tableau 13 : Résultats de variation de masse de CEFALIZOL HUP 1g.

flacon	Flacon plein	Flacon vide	Masse de poudre	T%	X _i	Norme	conformité
01	12.38	11.38	1	96.8123	4.8916	≤ 15	conforme
02	12.36	11.32	1.04	100.6848			
03	12.28	11.31	0.97	93.9079			
04	12.22	11.19	1.03	99.7166			
05	12.35	11.42	0.93	100.6848			
06	12.37	11.34	1.03	100.6848			
07	12.25	11.21	1.04	98.7485			
08	12.47	11.43	1.04	93.9079			
09	12.34	11.32	1.02	97.49			
10	12.38	11.41	0.97	93.7166			
M _m			1.007	97.49			

D'après Les résultats, la variation de masse est égale à **4.8916**, elle est dans les normes exigés par la Pharmacopée Européenne (≤ 15).

5.1.3.3. Comptage des particules :

Cette méthode consiste à déterminer les particules étrangères présents dans les flacons de Céfazoline, les résultats présentant dans le tableau suivant :

Tableau 14 : Résultats des testes d’essai de CEFALIZOL HUP 1g.

Essai	La région de lecture	
	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25\mu\text{m}$
Essai 01	625	49
Essai 02	475	25
Essai 03	464	22
La moyenne	521	32
Norme	≤ 6000	≤ 600

D’après le **tableau 14**, la moyenne des tests d’essai des flacons de CEFAZOLINE est dans les normes et dans les deux régions de lecture, ce qui prouve que le résultat de test est conforme et notre poudre de CEFALIZOL HUP 1g est en bonne état.

5.1.3.4. Identification de Céfazoline par HPLC :

Les spectres obtenus par HPLC sont illustrés ci-dessous :

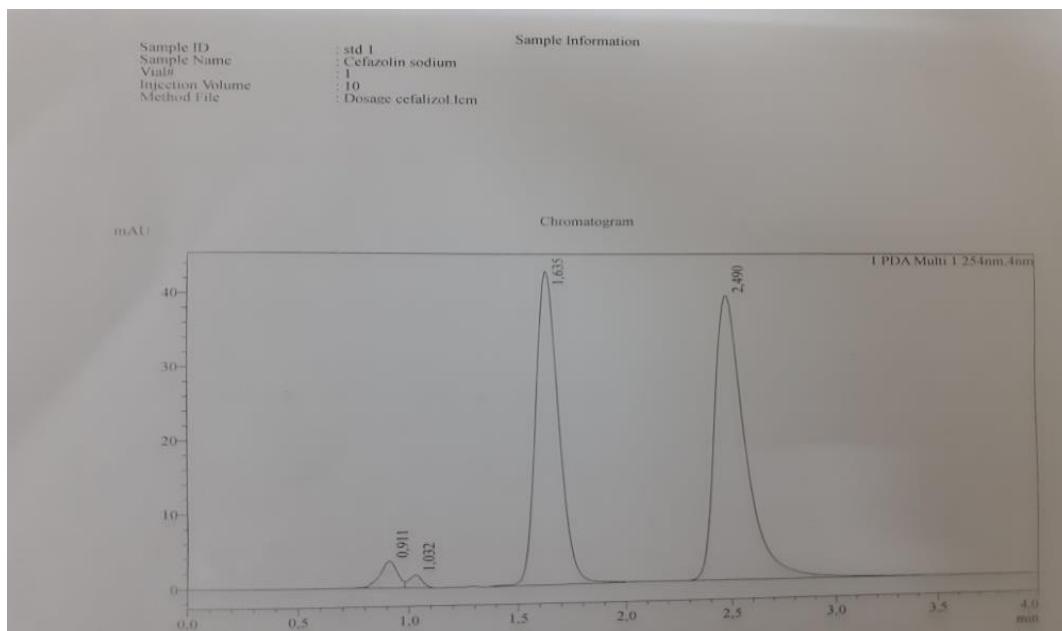


Figure 29 : Chromatogramme de la solution standard.

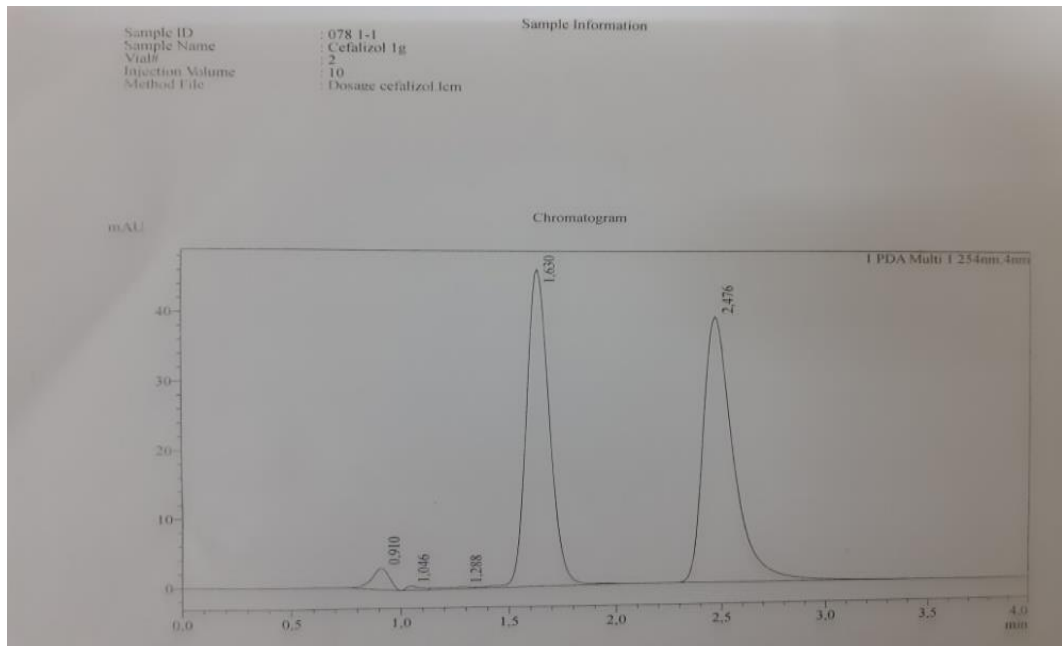


Figure 30 : Chromatogramme de Céfalizol 1g de lot 078.

Tableau 15 : Aires et les temps de rétention de chaque chromatogramme.

	Standard	Standard interne	Céfazoline
Aire	739533	1288	759969
Temps derétention (Tr) (min)	2.490	1.630	2.476
Moyenne	M.Aire : 318953.2	M.Tr : 2.402	

Pour convertir les aires données par l’HPLC en pourcentage on applique la formule suivante :

$$T = \frac{Ae}{At} \times \frac{Ct}{Ce} \times \frac{t}{100} \times \frac{(100-Tm)}{100} \times 100$$

Avec :

T : le titre de l’échantillon ;

A_{ech} : L’aire de l’échantillon ;

A_{std} : L’aire du standard (ou la moyenne des aires des standards préparés);

C_{ech} : La concentration de l’échantillon (0.002 mg/ml);

C_{std} : La concentration du standard (0.002 mg/ml);

T_{std} : Le titre du standard (99.26%); TH : La teneur en eau (0.21%).

NB : Cette formule sera utilisée pour tous les dosages effectués par HPLC.

Tableau 16 : titre du Céfazoline d'échantillons obtenus à partir du poudre de flacon.

	Titre (%)	Norme (%)	Conformité
poudre du Céfazoline	97.499506	[95-105]	Conforme

D'après le **tableau (15)** : l'ensemble d'échantillons (CEFALIZOL HUP 1g) ainsi que le standard de référence ont donné des résultats semblables (figures 28, 29). Le temps de rétention de la poudre Céfazoline est de 2.476 min; ces résultats sont proches à la moyenne de T_R de standard préparés évaluée à 2.402 min.

D'après le **tableau (16)** : la teneur en principe actif dans la solution essais (CEFAZOLINE HUP 1g) est de 97.49%. Cette valeur est incluse dans l'intervalle exigé par la Pharmacopée Européenne [95-105], ce qui confirme la bonne répartition du principe actif dans la poudre de Céfazoline.

5.1.3.5. Identification de Céfazoline par UV-visible :

Les spectres d'absorbances mesurées de standard et de flacon de lot 078 sont récapitulés dans les deux figures suivant :

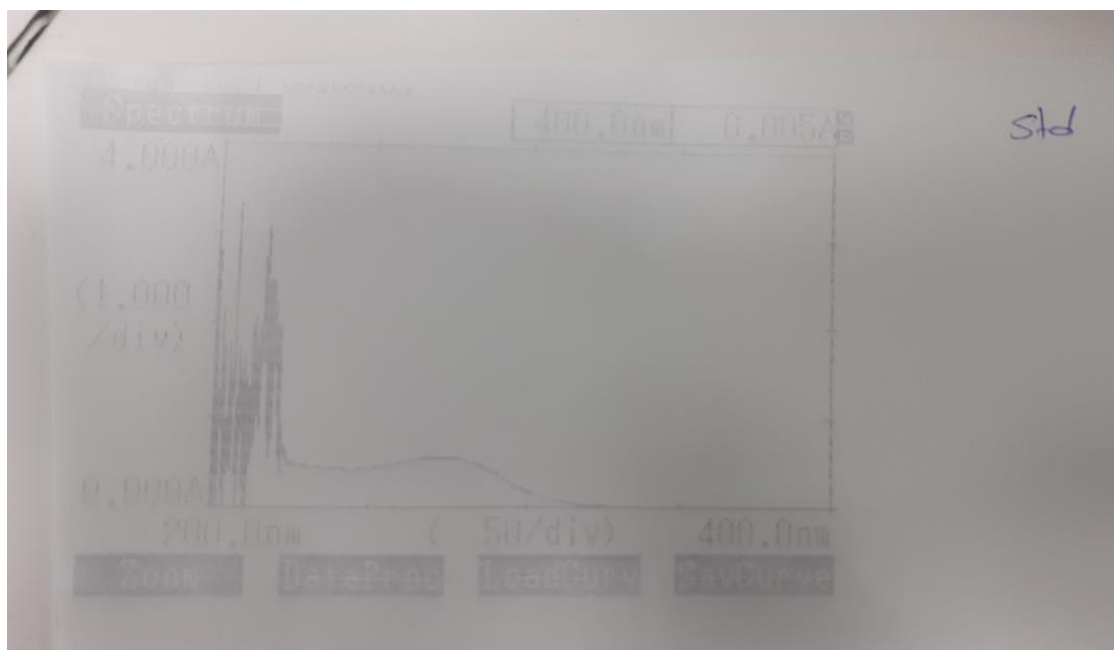


Figure 31 : Spectre de la solution standard.

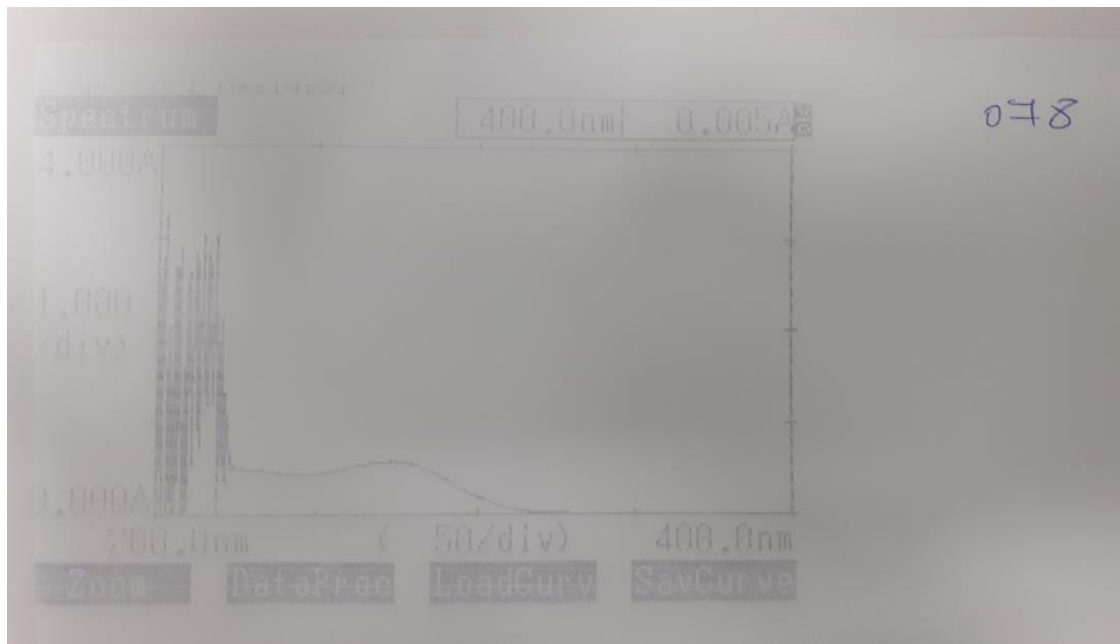


Figure 32 : Spectre de la solution de Céfazoline de lot 078.

D'après les deux figures : le spectre d'absorbance de Céfazoline et de standard sont semblables, ce qui confirme la bonne répartition du principe actif dans la poudre de Céfazoline.

5.2. Analyses microbiologiques :

Tous les résultats obtenus sont comparés avec les normes précisées par la Pharmacopée Européenne 9^{ème} édition afin de déterminer la conformité du l'ampoule d'eau ppi et de poudre de Céfazoline.

5.2.1. Contrôle microbiologique de l'eau ppi :

Le contrôle microbiologique de l'eau ppi consiste en un dénombrement des germes aérobies totaux. Ces germes peuvent provenir des tuyaux de distribution ainsi que des différentes machines de production d'eau ppi si ces dernières ne sont pas rigoureusement surveillées.

Les résultats de contrôle microbiologique de l'eau ppi obtenus sont présentés dans le tableau (17) :

Tableau 17 : Résultats du contrôle microbiologique sur l'eau ppi.

UFC/200 ml	UFC/ml	Norme (UFC/ml)	Conformité
133	0.266	10	Conforme

Le résultat démontre que le nombre des germes est de 0.266 UFC/ml, cette valeur est très loin du seuil d’alerte exigé par la Pharmacopée Européenne (10 UFC/ml).

Il résulte que cette eau ppi est de bonne qualité microbiologique.

5.2.2 Analyse du CEFALIZOL HUP 1g :

Les résultats de l’analyse du poudre pour injection (Céfazoline) qui effectuer par le test de stérilité présentés dans le tableau suivante :

Tableau 18 : Résultats du contrôle microbiologique sur la poudre de Céfazoline.

Test	résultat	norme	Conformité
Stérilité	Aucune trouble	Aucune trouble	conforme

D’après le tableau (18) : il ya aucune trouble dans les canestères donc il ya aucune germe ce qui résulte la Conformité de la poudre de Céfazoline.

Les résultats de contrôle microbiologique (analyse d’eau ppi est de poudre de Céfazoline), confirme la bonne répartition microbiologique de CEFALIZOL HUP 1g.

CONCLUSION

Conclusion :

Dans cette étude, nous avons effectué différentes analyses physicochimiques et microbiologiques réalisées au sein du laboratoire de contrôle HUP PHARMA dont le but d'assurer la conformité de toutes les substances testées (principe actif) de CEFALIZOL® HUP 1g et d'EPPI, avec les normes de la pharmacopée européenne 9^{ème} édition.

En dernier, dans le but d'assurer la qualité physico-chimique d'EPPI et de poudre de Céfazoline, plusieurs analyses ont été réalisées à savoir : les caractères organoleptiques (odeur, aspect, couleur), le pH, la contamination particulière, et la variation de masse.....

Par ailleurs, la qualité microbiologique de l'eau ppi (EPPI) et de la poudre de Céfazoline a été vérifiée au sein du laboratoire de microbiologie. Pour ce faire, le test a été réalisé dont, le dénombrement des germes aérobies mésophiles viables totaux,

Le test de stérilité de la poudre de Céfazoline, Les résultats obtenus indiquent l'absence totale de tous les germes, ce qui affirme la bonne qualité microbiologique de l'eau ppi et du poudre de Céfazoline sa conformité aux normes de la pharmacopée européenne 9^{ème} édition.

Tous les résultats des contrôles effectués ont montré une conformité aux normes exigées par la pharmacopée européenne 9^{ème} édition. Ce qui résume essentiellement que le produit peut être délivré aux patients sans aucun risque.

Ainsi que, la réalisation de ce stage professionnel nous a permis :

- d'acquérir et mettre en pratique les compétences techniques nécessaires pour entrer

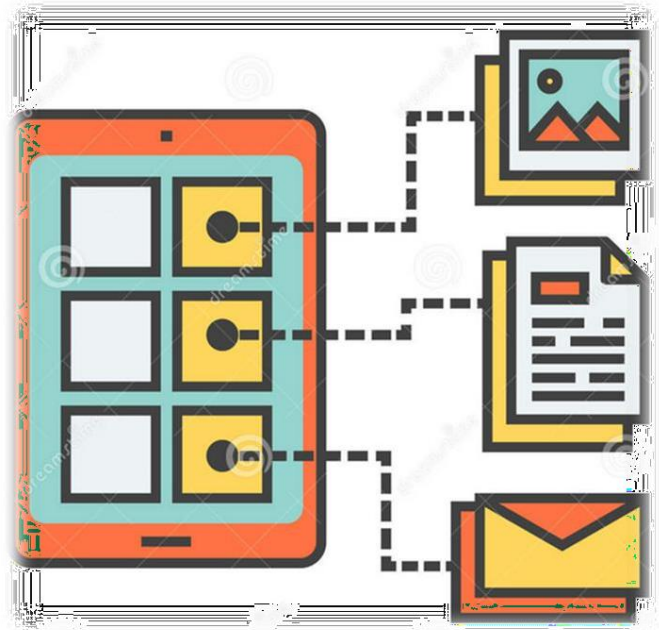
Dans la vie professionnelle.

- il a contribué à mettre en accord le projet d'étude et le projet professionnel qui est l'un des éléments contribuant à notre orientation au cours de nos études universitaires.
- Il nous a aussi aidé à préparer notre insertion professionnelle par une expérience qui

Nous a permis de mettre en application, au cours d'un travail bien défini, nos qualités

Personnelles et nos connaissances acquises à l'université.

RÉFÉRÉNCES BIBLIOGRAPHIQUES



Références Bibliographie :

- [1] : **Lanet j, (1991)**. La qualité pharmaceutique. Edition santé. p : 23
- [2] : Pharmacopée Européenne 9eme édition.
- [3]: **Sandeep Nema, John D. Ludwig**. Pharmaceutical Dosage Forms : Parenteral Medications. 3ème Edition, Volume 1. Informa Healthcare, 2010.
- [4] : **Michael J. Akers**. Sterile Drug Products : Formulation, Packaging, Manufacturing, and Quality. Informa healthcare, 2010.
- [5] : **Pascal Wehrle**, pharmacie galénique : formulation et technologie pharmaceutique.
- [6] : **A.LE HIR**, Pharmacie galénique : bonne pratique de fabrication 8eme édition.
- [7] : **Frédéric Collet, Leem**, entreprise des médicaments en Europe, Bilan économique édition 2020.
- [8] : **J-M Aiache, J-Ph.Devissaguet**. Galénica 2 biopharmacie. 2^{ème} édition, Paris, 1982.
- [9] : **A.DENOEL, Fr. JAMINET**, PHARMACIE GALÉNIQUE Objets de pansement et injectables, Tome 2, France, 1971.
- [10] : **A. James - M. Schmid** / avril 1993 / Infographie PhM / revu C. Barbey - C. Guillod mars 2001
- [11] : **Rachid Demine**, cours de pharmacie galénique, Algerie, 2009.
- [12] : **Monographie de Cefazoline**, <http://apollopharmainc.com/wp-content/uploads/2016/11/Product-Monograph-Cefazolin-for-Injection-October-25-2016-FRENCH>.
- [13] : **Monographie de Cefazoline**, <http://apollopharmainc.com/wp-content/uploads/2018/11/Product-Monograph-Cefazolin-for-Injection-6 juin 2018 -FRENCH>.
- [14] : **Holloway.K**. Les comités pharmaceutiques et thérapeutiques, guide pratique. 2004.
- [15] : **LANET J**. Système d'assurance de qualité dans l'industrie des médicaments. Contribution à leur conception, organisation, vérification. Université de Lille II, Faculté de pharmacie, département galénique, 1985, thèse de doctorat des sciences.
- [16] : **Bouchard, 2009**, « Etude de Stabilité et de Contrôle Qualité sur « Augmentain PPSB 60 ml » », Université Abderrahmane Mira de Bejaia, Faculté des sciences de la nature et de la vie, 2016.
- [17] : **(GlaxoSmithKline, 2014)**, « Etude de Stabilité et de Contrôle Qualité sur « Augmentain PPSB 60 ml » », Université Abderrahmane Mira de Bejaia, Faculté des sciences de la nature et de la vie, 2016.
- [18] : https://pharmacie.hug.ch/sites/pharmacie/files/ens/cours/pfpq/PPPQ08_T5_Eau_pharmaceutique

- [19] : B.Gwenola, B Jean-Louis, "Méthodes instrumentales d'analyse chimique", Lavoisier, France 2011.
- [20] : Académie de Rouen, HPLC Principe et appareillage, janvier 2010 , Récupéré sur biotech rouen: <http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article9> Copyright /© Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humain.
- [21] : **Anonyme, (2017).**Spectroscopie ultraviolette visible (UV-Vis)
<https://www.jove.com/science-education/10204>
- [22] : RCP (résumé des caractéristiques du produit).
- [23] : **Eric LEVACHER, Groupe IMT** ouvrage rédigé en groupement d'auteurs des industries pharmaceutiques et cosmétologiques. P41 pharmacotechnie industrielle page 197.
- [24] : <https://www.auxilab.es/fr/produits-laboratoire/kit-rampe-filtration-6-pos-avec-pompe-a-vide>.
- [25] : <https://www.biospectrumindia.com/news/60/12292/merck-launches-new-steritest-neo-device.html>.
- [26] : <https://www.biospectrumasia.com/news/27/12316/merck-launches-new-steritest-neo-device.html>.
- [27] : **Lanet j, (1991).** La qualité pharmaceutique. Edition santé. p : 23.

Résumé

Un médicament est un produit dont sa composition possède des propriétés curatives et préventives à l'égard des maladies, ce dernier doit présenter des caractéristiques constantes et parfaitement définies.

L'objectif de cette étude consiste à suivre les étapes de contrôle qualité physico-chimique et microbiologique de CEFALIZOL® HUP 1g (poudre pour injection) et l'eau PPI (eau pour préparation injectable) produit par l'unité de production pharmaceutique HUP PHARMA-ZI Le palma-Constantine, à fin d'établir la conformité du produit fini avec la norme de la pharmacopée européenne. Différentes analyses de contrôle physicochimique ont été réalisées au niveau du laboratoire : plus précisément le dosage du Cefazoline par HPLC, et l'identification de principe active par spectrophotométrie UV-visible.

Les résultats obtenus, de ces tests, permettent de conclure que le produit fini est conforme. Par ailleurs, l'analyse microbiologique a été faite sur le produit fini et l'eau PPI. Les résultats obtenus montrent l'absence totale des microorganismes, donc conforme aux normes prescrites par la pharmacopée. Le médicament CEFALIZOL® HUP 1g est considéré de bonne qualité pharmaceutique et de ce fait, commercialisable.

Mot clés

PPI, physicochimique, microbiologique, HPLC, HUP PHARMA, CEFALIZOL® HUP.

Abstract

Drug is a product that contains in his composition curative and preventive properties toward diseases that must define perfectly constant characteristics.

The objective behind this study is to follow the physico-chemical and microbiological quality of CEFALIZOL® HUP 1g (powder for injection) and the PPI water (water for injection) produced by the pharmaceutical production unit HUP PHARMA -ZI Le palma- Constantine, for establishing the conformity of the finished product with the standard of the European pharmacopoeia, Various physicochemical control analyses were carried out in the laboratory. More specifically, the dosage of Cefazoline by HPLC, and the identification of the active principle using the spectrophotometer UV-visible. The finished product is compliant. In addition, microbiological analysis was carried out on the finished product and the PPI water. The results obtained show the total absence of microorganisms, thus conforming to the standards prescribed by the pharmacopoeia. The drug CEFALIZOL® HUP 1g is considered to be of good pharmaceutical quality and therefore marketable.

Keywords

PPI, physicochemical, microbiological, HPLC, UV, HUP PHARMA, CEFALIZOL® HUP.

ملخص

الدواء هو منتج لا يشبه أي دواء آخر له خصائص علاجية ووقائية للأمراض، يجب أن يكون للأخير خصائص متسقة ومحددة تمامًا.

الهدف من هذه الدراسة هو إتباع خطوات مراقبة الجودة الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لـ سيفاليزول ® هيب I غ (مسحوق للحقن) وماء PPI (ماء للتحضير عن طريق الحقن) الذي تنتجه وحدة الإنتاج الصيدلاني HUP PHARMA – المنطقة الصناعية بالما قسنطينة ، بهدف إثبات مطابقة المنتج النهائي لمعيار دستور الأدوية الأوروبي. تم إجراء تحليلات تحكم فيزيائية كيميائية مختلفة على مستوى المختبر: بشكل أكثر دقة جرعة سيفازولين بواسطة HPLC، وتحديد المبدأ النشط بواسطة الأشعة فوق البنفسجية. النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الاختبارات تسمح لنا باستنتاج أن المنتج النهائي متوافق. بالإضافة إلى ذلك ، تم إجراء التحليل الميكروبيولوجي على المنتج النهائي وماء PPI ، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها الغياب التام للكائنات الحية الدقيقة ، وبالتالي الامتثال للمعايير المنصوص عليها في دستور الأدوية. يعتبر عقار سيفاليزول ® هيب I غ ذا جودة دوائية جيدة وبالتالي فهو قابل للتسويق.

كلمات مفتاحية

هيب ® لـ سيفاليزول, HUP PHARMA , الميكروبيولوجية, PPI, الفيزيائية والكيميائية

Noms et Prénoms : BaBaouamer Abdelhakim.

Thème : Analyse physico-chimique et microbiologique d'une forme injectable,
«CEFALIZOL® HUP 1g»

Résumé :

Un médicament est un produit dont sa composition possède des propriétés curatives et préventives à l'égard des maladies, ce dernier doit présenter des caractéristiques constantes et parfaitement définies.

L'objectif de cette étude consiste à suivre les étapes de contrôle qualité physico-chimique et microbiologique de CEFALIZOL® HUP 1g (poudre pour injection) et l'eau PPI (eau pour préparation injectable) produit par l'unité de production pharmaceutique HUP PHARMA-ZI Le palma-Constantine, à fin d'établir la conformité du produit fini avec la norme de la pharmacopée européenne. Différentes analyses de contrôle physicochimique ont été réalisées au niveau du laboratoire : plus précisément le dosage du Cefazoline par HPLC, et l'identification de principe active par spectrophotométrie UV-visible.

Les résultats obtenus, de ces tests, permettent de conclure que le produit fini est conforme. Par ailleurs, l'analyse microbiologique a été faite sur le produit fini et l'eau PPI. Les résultats obtenus montrent l'absence totale des microorganismes, donc conforme aux normes prescrites par la pharmacopée. Le médicament CEFALIZOL® HUP 1g est considéré de bonne qualité pharmaceutique et de ce fait, commercialisable.

Mot clés : PPI, physicochimique, microbiologique, HPLC, HUP PHARMA, CEFALIZOL® HUP.

Laboratories : HUPPHARMA Constantine .

Président du jury : Dr Gharboudj ouiseem.	(UFMC1)
Rapporteur : Dr DINAR Karim.	(UFMC1)
Examinatrice : Dr BENCHIHEUB Meriem.	(UFMC1)