

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



جامعة قسنطينة 1
UNIVERSITÉ CONSTANTINE 1

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



جامعة قسنطينة 1
UNIVERSITÉ CONSTANTINE 1

Mémoire

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant
Filière : Sciences biologiques, Spécialité: Bioindustrie, Analyse et Contrôle

Par : Nom et prénom : DAIKH Takoua
Nom et prénom : DAFRI Fouzia

Thème

**Contrôle qualité physico-chimique et microbiologique de
la FLUVASTATINE LDM 80 mg**

Jury d'évaluation :

Président de jury: Mr. KACEM CHAOUCHE N

Rapporteur : Mme. KARA ALI M.

Examinatrice : Mme CHOUARFA F.

Responsable de stage : Mme BENCHAIB F.

Prof. Univ. Constantine 1.

Dr. Univ. Constantine 1.

Dr. Univ. Constantine 1

Responsable contrôle qualité LDM

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2016-2017

Remerciements

Tout d'abord, nous exprimons nos plus vifs remerciements à Monsieur EL AMMOUCHI PDG du groupe LDM ; nous lui exprimons notre immense gratitude, pour nous avoir accueillis au sein de toutes les unités de production et d'avoir mis à notre disposition tout le matériel nécessaire pour réaliser ce travail.

Nos remerciements vont aussi à toute l'équipe du laboratoire de contrôle qualité LDM, à leur tête Mme BENCHAIB F., responsable contrôle qualité LDM, pour la finesse de ses attitudes sur le plan aussi bien humain que scientifique.

Nos remerciements s'adressent au Pr KACEM CHAOUICHE N, directeur du département biologie appliquée, directeur du LaMyBAM et professeur à l'université Mentouri Constantine 1, de nous avoir donné la chance d'intégrer ce master professionnel, de nous avoir poussé à nous améliorer continuellement, en partageant avec nous ses expériences et sa passion pour la connaissance. On le remercie vivement de ses efforts avec les opérateurs économiques pour nous incorporer au sein de l'industrie, et enfin c'est un grand honneur pour nous de vous avoir en tant que président du jury de notre soutenance. Merci pour tout ce que vous avez fait.

On remercie Mme CHOUARFA F., docteur à l'université de constantine1, d'avoir trouvé le temps de lire et d'examiner notre travail de master. On vous remercie d'avoir bien voulu être l'un des mes rapporteurs et membre du jury.

Toute notre gratitude à Mme KARA ALI M., docteur à l'université de Constantine 1, d'avoir accepté de nous encadrer, d'avoir été d'une grande patience et d'une immense générosité humaine et académique.

Un profond respect à tous nos professeurs des deux années master et à nos collègues.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail:

A mes très chers parents pour leur patience, leur soutien et leur sacrifice qui m'ont poussé à aller jusqu'au bout de cette tâche, que dieu me les garde.

A mes frères Taki , Anouar et Islam.

A mes tantes Siham, Ghania et Mahbouba pour leurs soutien inconditionnel.

A toute ma famille DAIKH et BENZERFA.

A mon binôme Fouzia.

A mes Amies : Ibtissam , Shérine et Fatima.

A mes deux Co-encadreurs industriel Ines et Nasro .

Takoua

Dédicaces

A ma mère, ne pouvant la remercier de vive voix, je lui adresse ici une pensée particulière...

A ma famille ; Lyes mon mari, Sara et Serine mes filles, mes sœurs et frères.

A mon adorable binôme pour toujours Takoua.

Fouzia

Table des matières

Table des matières

Remerciements et dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

1.	Introduction	01
2.	Etude bibliographique	03
2.1	Généralités sur les médicaments.....	03
2.2	Paramètres à maîtriser dans l'industrie pharmaceutique.....	04
2.2.1	La référence de qualité pour l'industrie pharmaceutique	04
2.2.2	La qualité d'un médicament	05
2.2.3	Contrôle de la qualité (CQ).....	05
2.2.3.1	Contrôle physico-chimique	05
2.2.3.2	Contrôle microbiologique	05
2.2.4	Stratégie de contrôle	06
2.2.5	Système d'assurance qualité pharmaceutique.....	06
2.2.6	La gestion de la qualité	06
2.2.7	Les bonnes pratiques de fabrication	07
2.2.8	Qualification et validation	07
2.2.9	Les cinq M	07
2.2.10	Le système documentaire.....	08
2.3	Présentation du Laboratoire de Diagnostics Magrébins (LDM)	08
2.3.3	Différentes formes et classes thérapeutiques fabriquées par LDM.....	09
2.3.4	Différentes unités du laboratoire de contrôle LDM.....	09
2.3.5	Processus de fabrication des formes pharmaceutiques.....	10
2.3.6	Présentation de la FLUVASTATINE LDM 80 mg	12
2.3.7	Présentation des excipients.....	14
2.3.7.1	Cellulose microcristalline	14
2.3.7.2	Hypromellose	14
2.3.7.3	Povidone	14
2.3.7.4	Opadry.....	15
2.3.7.5	Stéarate de magnésium.....	15
2.3.7.6	Bicarbonate de potassium	15
2.3.7.7	Eau	15
2.3.7.7.1	Différents types d'eau à usage pharmaceutique	15
2.4	Techniques de prélèvement des échantillons.....	16
2.4.1	Bonnes pratiques d'échantillonnage	16
2.4.2	Plan d'échantillonnage	17
2.5	Stabilité des médicaments.....	17
2.6	Formes galéniques.....	18
2.6.2.3	Intérêt de la forme galénique LP	19
2.7	Techniques de contrôle physico-chimiques les plus utilisées en industrie pharmaceutique	20
2.7.1	Chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP).....	20
2.7.2	Spectroscopie infrarouge.....	21

3.	Matériel et méthodes	23
3.1	Contrôle physico-chimique des substances testées.....	23
3.1.1	Contrôle physico-chimique de la matière première.....	23
3.1.1.1	Principe actif (Fluvastatine sodique).....	23
3.1.1.2	Excipients.....	28
3.1.1.2.1	Excipient 1:Cellulose microcristalline.....	28
3.1.1.2.2	Excipient 2 : Stéarate de magnésium	31
3.1.1.2.3	Excipient 3 : Opadry	33
3.1.1.2.4	Excipient 4 : Eau purifiée	34
3.1.2	Contrôle physico-chimique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg (produit fini).....	36
3.1.3	Tests au cours de fabrication (in process)	39
3.2	Contrôle microbiologique des substances testées.....	41
3.2.1	Contrôle microbiologique de la matière première.....	41
3.2.1.1	Principe actif (Fluvastatine sodique)	41
3.2.1.1.1	Dénombrement des germes aérobies mésophiles viables totaux	41
3.2.1.1.2	Dénombrement des levures et moisissures	41
3.2.1.1.3	Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	41
3.2.1.1.4	Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	42
3.2.1.1.5	Recherche <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
3.2.1.1.6	Recherche de <i>Salmonella</i>	42
3.2.1.2	Excipients.....	42
3.2.1.2.1	Excipient 1 : Cellulose microcristalline	42
3.2.1.2.2	Excipient 2 : Stéarate de magnésium	42
3.2.1.2.3	Excipient 3 : Eau purifiée	43
3.2.2	Contrôle microbiologique de FLUVASTATINE LDM 80mg (produit fini).....	43
4.	Résultats et discussion	45
4.1	Contrôle physico-chimique des substances testées.....	45
4.1.1	Contrôle physico-chimique de la matière première.....	45
4.1.1.1	Principe actif (Fluvastatine sodique).....	45
4.1.1.2	Excipients.....	53
4.1.1.2.1	Excipient 1:Cellulose microcristalline.....	53
4.1.1.2.2	Excipient 2 : Stéarate de magnésium	54
4.1.1.2.3	Excipient 3 : Opadry	56
4.1.1.2.4	Excipient 4 : Eau purifiée	57
4.1.2	Contrôle physico-chimique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg (produit fini).....	58
4.1.3	Tests au cours de fabrication (in process)	66
4.2	Contrôle microbiologique des substances testées.....	67
4.2.1	Contrôle microbiologique de la matière première.....	67
4.2.1.1	Principe actif (Fluvastatine sodique)	67
4.2.1.2	Excipients.....	68
4.2.1.2.1	Excipient 1:Cellulose microcristalline.....	68
4.2.1.2.2	Excipient 2 : Stéarate de magnésium.....	69
4.2.1.2.3	Excipient 3 : Eau purifiée	69
4.2.2	Contrôle microbiologique de FLUVASTATINE LDM 80mg (produit fini).....	69
5.	Conclusion et perspectives	71

6.	ABSTRACT	72
7.	ملخص	73
8.	Références bibliographiques	74
9.	Annexes	

Liste des abréviations

AQ	Assurance Qualité
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication
CP	Comprimés
CQ	Contrôle Qualité
DGAT	Dénombrement des Germes Aérobieux Totaux.
DMLT	Dénombrement des Moisissures et Levures Totales.
E	Essai
EP	Eau Purifiée
Fluv .	Fluvastatine
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
Imp.	Impuretés
IR	Infra Rouge
kBr	Bromure de potassium
LCQ	Laboratoire de Contrôle Qualité
LOD	Limits Of Detection
MCA	Milieu gélosé de MacConKey
MCB	Milieu liquide de MacConKey
MSPRH	Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière
NaCl	chlorure de sodium
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P.A	principe actif.
PF	Produit Fini
Ph. Eur	Pharmacopée Européenne
PP	Bonnes pratiques de préparation

SCR	Standard de Contrôle et de Référence
SDA	Milieu Sabouraud Dextrosé Gélosé
Sol.	Solution
T	Témoin
TR	Temps de rétention
TRR	Temps de rétention relatif
TSA	Tryptic Soy Agar, Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja
TSB	Tryptic Soy Broth, Milieu liquide aux peptones de caséine et du soja
TSE	Solution tampon peptonée au Chlorure de sodium
UFC/ g	Unité Formant Colonies par gramme de produit
UV	Rayon ultra violet
WHO	World Health Organization

Liste des tableaux

Tableau 01	Les différentes activités et les objectifs du chaque unité du laboratoire LDM...	10
Tableau 02	Différents solvants utilisés pour tester la solubilité du principe actif	24
Tableau 03	Paramètre de la colonne HPLC.....	26
Tableau 04	Système de gradient	26
Tableau 05	Différents solvants pour tester la solubilité de Cellulose microcristalline	28
Tableau 06	Différents solvants pour tester la solubilité de Stéarate de magnésium	31
Tableau 07	Condition opératoire du dissolu test	37
Tableau 08	Conditions Chromatographiques pour dissolution	37
Tableau 09	Conditions chromatographiques pour dosage	38
Tableau 10	Système de gradients.....	39
Tableau 11	Tests <i>In process</i>	40
Tableau 12	Caractères du principe actif (Fluvastatine sodique).....	45
Tableau 13	pH du Fluvastatine sodique.....	47
Tableau 14	Identification des substances apparentées.....	51
Tableau 15	Teneur en eau de la Fluvastatine sodique.....	51
Tableau 16	Dosage de la Fluvastatine sodique.....	52
Tableau 17	Caractères et identification de la cellulose microcristalline.....	53
Tableau 18	Essais sur la cellulose microcristalline.....	54
Tableau 19	Caractères du stéarate de magnésium	54
Tableau 20	Différents tests d'identification du stéarate de magnésium.....	55
Tableau 21	Essais sur le stéarate de magnésium.....	55
Tableau 22	Les différents essais appliqués sur l'eau purifiée.....	57
Tableau 23	Pesée des comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg.....	58
Tableau 24	Temps de rétention et aires de Fluvastatine standard.....	59
Tableau 25	Dissolution du FLUVASTATINE LDM 80 mg après 30 min.....	60
Tableau 26	Dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 2h.....	61
Tableau 27	Dissolution du FLUVASTATINE LDM 80 mg après 4 h.....	61
Tableau 28	Dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 8h.....	62
Tableau 29	Dissolution des comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg comparée à la norme.....	63
Tableau 30	Pourcentage du dosage FLUVASTATINE LDM 80 mg.....	63
Tableau 31	Dosage des impuretés pour le lot 5174.....	66

Tableau 32	Les caractères physico-chimiques des produits testés <i>in process</i>	67
Tableau 33	Résultats du contrôle microbiologiques relatifs au principe actif Fluvastatine sodique.....	68
Tableau 34	Résultats du contrôle microbiologiques relatifs à l'excipient cellulose microcristalline	68
Tableau 35	Résultats du contrôle microbiologiques relatifs à l'excipient Stéarate de magnésium.....	69
Tableau 36	Résultat du contrôle microbiologique relatif à la FLUVASTATINE LDM 80mg.....	70

Liste des figures

Figure 01	Fabrication des formes pharmaceutiques	11
Figure 02	Structure chimique de la Fluvastatine Sodique.....	13
Figure 03	Schéma d'une chaine d'HPLC.....	20
Figure 04	Chromatogramme	21
Figure 05	Système du spectromètre infrarouge : A, spectromètre ; B, spectre.....	22
Figure 06	Préparation des pastilles du principe actif.....	24
Figure 07	Carrousel d'HPLC.....	26
Figure 08	Karl Fischer.....	27
Figure 09	Conductimètre	29
Figure 10	Dessiccateur de silice.....	29
Figure 11	Dissolu test.....	37
Figure 12	Rampe de filtration (Sartorius Combisart).....	43
Figure 13	Spectres infra rouge de SCR Fluvastatine sodique (A), et des différents lots : 0610217(B), 0620217(C) et 0630217 (D).....	46
Figure 14	Spectre infra rouge du PA.....	47
Figure 15	Formule brute de Fluvastatine	47
Figure 16	Chromatogrammes du standard de la Fluvastatine sodique : A, dans la phase mobile A ; B, dans la phase mobile B détectés à 305 nm.....	48
Figure 17	Chromatogrammes de la Fluvastatine sodique des trois lots (305 nm).....	49
Figure 18	Chromatogrammes relatifs à l'impureté D de la Fluvastatine sodique des trois lots (365 nm).....	50
Figure 19	Recherche des métaux lourds de la fluvastatine sodique	52
Figure 20	Courbe de dosage de la fluvastatine sodique par titration.....	52
Figure 21	Spectres infra rouge de l'opadry : A, Essai, B, Standard	56
Figure 22	Chromatogramme de dissolution de Fluvastatine standard (305 nm).....	59
Figure 23	Chromatogramme de dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 30 min (305 nm).....	59
Figure 24	Chromatogramme de dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 2h (305 nm).....	60
Figure 25	: Chromatogramme de dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 4h (305 nm).....	61
Figure 26	Chromatogramme de dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 8h (305nm).....	62
Figure 27	Chromatogramme standard- dosage Fluvastatine sodique (305 nm.).....	64
Figure 28	Chromatogramme standard- Fluvastatine sodique (365 nm)	64
Figure 29	Chromatogrammes des 3 lots de FLUVASTATINE 80 mg 5174 ; 5175 et 6079.....	65

Liste des annexes

Annexe 01 Dosage

Annexe02 Préparation des solutions pour le contrôle physico-chimique

Annexe 03 Préparation des milieux de cultures pour le contrôle microbiologique

Introduction

1.Introduction

Depuis longtemps, chaque pharmacien fabriquait ses médicaments directement à partir de matières végétales ou minérales (Lloyd, 1911). C'est à la fin du XIXe siècle que l'industrie pharmaceutique moderne est née notamment avec le développement de la chimie qui a conduit au développement des médicaments de synthèse et à la naissance de grands laboratoires pharmaceutiques mondiaux. Récemment, l'industrie pharmaceutique, est l'industrie la plus puissante au monde et un secteur dynamique avec un marché mondial aux perspectives de forte augmentation (Boukli, 2011).

Selon Mr. Hamou HAFED (Directeur de la pharmacie en algérie), la taille du marché pharmaceutique algérien était estimée à 3,3 milliards d'euros à la fin de 2016. il a précisé aussi, lors des travaux de la 18^{ème} édition du Forum pharmaceutique international, que l'approvisionnement en médicaments en Algérie est actuellement assuré par 314 opérateurs privés, 150 grossistes-distributeurs et 9.600 officines de pharmacie.

La part de marché de la production locale de médicaments a été multipliée par 5 durant les cinq dernières années alors que celle des importations (produits finis et en vrac) par les opérateurs privés a diminué de 14,5% sur la même période. Actuellement, la dotation budgétaire allouée à ce secteur est de 100 milliards de DA contre 54 milliards de DA en 2012, (Anonyme 1, 2017).

L'Algérie a enregistré l'inscription plus de 140 nouveaux projets d'investissements dans le domaine pharmaceutique avec une moyenne de trois à quatre unités de fabrication qui voient le jour annuellement.

Les pouvoirs publics essaient de maîtriser les dépenses en médicaments notamment à travers la promotion d'une industrie pharmaceutique locale dédiée au générique.

Du point de vu de l'impact économique du médicament générique pour notre société l'industrie pharmaceutique nationale se trouve aujourd'hui confrontée à de grands déficit, dans le but est de réduire cette lourde facture, le gouvernement a imposé des mesures réglementaires qui ont donné lieu à la naissance de plusieurs infrastructures de production dont la conception et la réalisation sont conformes aux normes techniques en vigueur. L'Algérie est dans l'obligation de prendre en marche le développement en encourageant la production et la commercialisation des médicaments génériques.

Ayant opté principalement pour la production des médicaments génériques, le secteur pharmaceutique national répondra certainement aux objectifs attendus en termes de disponibilité de produits, de qualité et d'accessibilité. De même qu'il induira des retombées positives sur la situation financière des caisses de sécurité sociale, la facture d'importation et la préservation des 12 000 emplois directs créés, dont près d'un tiers sont de niveau universitaire.

Les médicaments génériques étant de 20 à 30% moins chers que les médicaments princeps, ils permettent de réduire les dépenses des systèmes de santé. Comme le médicament générique vous revient moins cher, il en est de même pour l'assurance maladie, c'est autant d'économies réalisées pour le remboursement. Cette diminution de prix doit représenter pour le patient un avantage réel, indépendamment des remboursements dont ce médicament bénéficie. La plupart des maladies peuvent être soignées avec des médicaments génériques. Aujourd'hui grâce à leur diversité, on peut soigner la plupart des maladies avec des médicaments génériques, que ces maladies soient aiguës (infections, mal de dos...) ou chroniques (hypertension artérielle, diabète, bronchite chronique...), qu'elles soient bénignes (toux...) ou sérieuses (infarctus, cancer...). Il existe sur le marché algérien des médicaments génériques mais la fabrication et le conditionnement de ces produits pharmaceutiques nécessitent des contrôles physico-chimiques et microbiologiques.

Cette recherche a élaboré l'étude des paramètres physico-chimiques et microbiologiques de FLUVASTATINE LDM 80 mg pour déterminer sa conformité avec les normes en vigueur et donc sa qualité.

Pour ce faire, des généralités sur les médicaments en relation avec les paramètres généraux à maîtriser dans l'industrie pharmaceutique, ainsi qu'une présentation de l'entreprise du LDM et les différents médicaments fabriqués par cette dernière ont été développés (revue bibliographique). L'étude expérimentale et la partie résultats sont scindées en deux grandes parties; la première est consacrée au contrôle physico-chimique de la matière première, excipients et FLUVASTATINE LDM 80 mg (produit fini), la deuxième partie est concernée pour le contrôle microbiologique de ces substances, Les résultats ont fait l'objet d'une confirmation de la qualité du produit testé FLUVASTATINE LDM 80 mg qui a le mérite de comparer nos résultats à ceux, déjà, développés par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition . Le travail s'achève par une conclusion qui ouvre des perspectives de recherche sur le thème étudié.

Revue Bibliographique

2.Revue bibliographique

2.1- Généralités sur les médicaments

2.1.1- Un médicament

Un médicament est toute substance possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal, ou pouvant leur être administrée en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique (Gagnault, 1982 ; Durant et Le Jeune, 2017).

2.1.2 – Un principe actif

Le principe actif d'un médicament est une substance d'origine chimique ou naturelle caractérisée par un mécanisme d'action curatif ou préventif précis dans l'organisme (Ansm, 2012). C'est une substance active douée de propriétés pharmacologiques, et est donc à la base de l'effet thérapeutique (Talbert *et al.*, 2001).

2.1.3- Un excipient

Les excipients sont des substances auxiliaires inertes servant à la formulation de la forme galénique ou destinée à créer une absorption par le corps. Ce sont le plus souvent des substances inertes sur le plan pharmacologique. La formulation permet en plus de présenter le médicament sous la forme la plus adaptée pour la voie d'administration souhaitée et éventuellement, le cas échéant, de moduler la vitesse de libération de la substance active vers l'organisme pour accélérer la désintégration ou encore délitage de celles-ci une fois arrivées dans l'estomac (Pilon, 2016).

2.1.4- Une matière première

Les matières premières sont des substances actives, excipients et éléments de mise en forme pharmaceutique destinés à être utilisés ou administrés chez l'homme ou l'animal (Husson, 2011).

2.1.5- Un produit fini

C'est un médicament qui a un nom commercial, qui a fait l'objet d'un enregistrement auprès des autorités de santé, qui est préparé industriellement selon des normes très strictes (les bonnes pratiques de fabrication) et est vendu par un laboratoire pharmaceutique. Sous son même nom de marque, il existe différentes formes pharmaceutiques et différents conditionnements, chacun faisant l'objet d'un enregistrement spécifique et restera protégée tant qu'elle fera l'objet d'une propriété intellectuelle et d'une protection des droits intellectuels et/ou commerciaux (brevet, exclusivité commerciale, licence). Une fois la propriété intellectuelle perdue (épuisement des droits du ou des brevets), le médicament peut être commercialisé sous des formes dites génériques (Chast, 2016).

2.1.6-Un générique

C'est une copie conforme du médicament de référence ou "princeps", le médicament générique, peut être fabriqué et commercialisé sous un nom différent par des laboratoires pharmaceutiques agréés. Le médicament générique répond aux mêmes critères de qualité et de sécurité que les produits de référence et est contrôlé par l'agence nationale de la sécurité du médicament et des produits (l'ANSM). Dans un médicament générique on peut changer les excipients selon les besoins du laboratoire (ANSM, 2016).

2.2-Paramètres à maîtriser dans l'industrie pharmaceutique

2.2.1-La référence de qualité pour l'industrie pharmaceutique

La **pharmacopée européenne** (Ph. Eur.) est un recueil de normes communes, à l'échelle européenne, destinées au contrôle de la qualité des médicaments à usage humain ou vétérinaire et des substances qui entrent dans leur composition. Son objectif est d'assurer à tous les patients, sur l'ensemble du continent européen, l'accès à des médicaments de même niveau de qualité.

Les textes de la pharmacopée européenne (les « monographies ») définissent des exigences de qualité, générales ou spécifiques, auxquelles doivent satisfaire les substances pharmaceutiques qui composent les médicaments, ainsi que les formes pharmaceutiques finales.

La pharmacopée européenne décrit également des méthodes d'analyse de référence. Elle est élaborée conjointement par les pays signataires de la convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne, dans lesquels elle est d'application obligatoire. Par extension, on

appelle également Pharmacopée européenne l'institution qui, dans le cadre de la Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé du Conseil de l'Europe, assure l'élaboration et la publication des normes de la pharmacopée européenne. Cette institution a pour objectif et mission la protection de la santé publique.

Il est important de noter que le référentiel du contrôle de la qualité des médicaments du laboratoire LDM est la **pharmacopée européenne 8^{ème} édition**.

2.2.2- La qualité d'un médicament

Selon la norme ISO, la qualité d'un médicament est l'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites (WHO, 2016).

2.2.3-Contrôle Qualité (CQ)

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 (Holloway, 2004).

2.2.3.1-Contrôle physico-chimique

La conformité du médicament aux normes et sa validité sont examinées par plusieurs méthodes analytiques qualitatives et quantitatives, telles que les dosages volumétriques, les dosages par spectrophotométrie UV/visible et l'analyse par différentes méthodes chromatographiques en l'occurrence, la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la spectrophotométrie infrarouge...etc., (Albert et *al.*, 1974 ; Ph. Eur. , 2014).

2.2.3.2- Contrôle microbiologique

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué, et minimisent les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication (Scriban, 1999). Les essais microbiologiques ont été conçus pour le

dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et des levures capables de croître en aérobiose. Ces essais sont en premier lieu destinés à déterminer, si un produit faisant l'objet d'une monographie de la pharmacopée satisfait aux exigences microbiologiques spécifiées dans cette monographie. Le choix de la méthode est déterminé par des facteurs, tels que la nature du produit et le nombre de microorganismes présumé. Quelle que soit la méthode choisie, elle doit être convenablement validée (Ph. Eur. 2014).

2.2.4- Stratégie de contrôle

C'est un panel de contrôles préétablis, basé sur les connaissances acquises sur le produit et le procédé, qui garantit la performance du procédé et la qualité du produit. Les contrôles peuvent inclure les paramètres et attributs liés (WHO, 2016). :

- A la substance active, aux matières premières et aux composants du produit
- Aux installations et conditions de fonctionnement des équipements;
- Aux contrôles en cours de fabrication;
- Aux spécifications du produit fini;
- Ainsi qu'aux méthodes associées et à la fréquence de surveillance et de contrôle

2.2.5- Système d'assurance qualité pharmaceutique

La personne qualifiée de l'établissement de fabrication doit fabriquer les médicaments adaptés à l'usage auquel ils sont destinés, conformes aux exigences de l'autorisation de mise sur le marché ou à l'autorisation de l'essai clinique, selon le cas, et qui n'exposent pas le patient à des risques dus à une sécurité, qualité ou efficacité insuffisante. L'atteinte de cet objectif de qualité engage la responsabilité de la direction et requiert la participation et l'engagement du personnel des différents départements à tous les niveaux de l'entreprise, de ses fournisseurs et distributeurs, intégrant les concepts fondamentaux de la gestion de la qualité, des bonnes pratiques de fabrication (Ansm, 2013).

2.2.6- La gestion de la qualité

C'est un large concept qui couvre tout ce qui peut, individuellement ou collectivement, influencer la qualité d'un produit. Elle représente l'ensemble des dispositions prises pour garantir que les médicaments sont de la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés. La gestion de la qualité intègre donc les bonnes pratiques de fabrication.

2.2.7- Les bonnes pratiques de fabrication

Les bonnes pratiques de fabrication (BPF), s'appliquent aux étapes du cycle de vie, depuis la fabrication des médicaments expérimentaux, le transfert de technologie, la fabrication commerciale jusqu'à l'arrêt du produit. Cependant, le système qualité pharmaceutique peut s'étendre à l'étape du développement pharmaceutique, comme décrit dans la ligne directrice International Conference on Harmonisation (ICH Q10, 2013), qui, tout en étant optionnelle, devrait faciliter l'innovation et l'amélioration continue et renforcer le lien entre le développement pharmaceutique et les activités de fabrication.

2.2.8- Qualification et validation

La qualification s'applique, selon les BPF, principalement aux équipements et aux installations. C'est une opération destinée à démontrer que tout matériel ou équipement utilisé pour la fabrication, le conditionnement ou le contrôle fonctionne correctement et donne des résultats attendus pour l'usage auquel il est destiné. L'opération de qualification permet de vérifier et garantir la fiabilité des équipements, d'établir des procédures de fonctionnement, de prévoir la maintenance, l'entretien, le changement des éléments défectueux afin d'assurer la conformité aux normes ou spécification définies et nécessaires à la qualité des produits fabriqués (Benvenuti, 2014).

2.2.9- Les cinq M

Pour éviter les risques de non qualité qui peuvent survenir en cours de fabrication et de conditionnement et ainsi maîtriser la qualité, il est mis en place selon les BPF la règle des 5M dont la qualification fait partie intégrante. L'observance de cette règle vise à garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité du produit (Ernoul, 2013).

- **Matières** : elles doivent être définies, analysées et conformes aux normes.
- **Milieu** : les locaux doivent être adaptés. l'environnement doit être maîtrisé selon sa criticité.
- **Main d'œuvre** : le personnel doit être qualifié, motivé et formé
- **Méthodes** : elles doivent être décrites avec précision d'où l'importance d'un système documentaire adéquate.
- **Matériel** : les moyens matériels doivent être adaptés, réglés, étalonnés et listés afin de convenir à l'usage prévu. La maintenance et le nettoyage de tous les appareils sont très

importants et la qualification va prouver et démontrer que l'équipement a été bien installé, fonctionne correctement et conduit aux résultats attendus.

2.2.10-Le système documentaire

La documentation est un élément essentiel du système d'assurance de la qualité, elle permet de retracer l'historique d'un lot » (Lanoux , 2003). Un bon système-qualité repose sur un manuel documentaire efficace (log book), dont le système documentaire permet de s'assurer que :

- Tous ce qui doit être fait est décrit (procédures, modes opératoires, consignesetc.);
- Ce qui est écrit est effectivement réalisé;
- Tout ce qui a été réalisé est enregistré sur un support approprié (log book).

2.3- Présentation du Laboratoire de Diagnostic Magrébins (LDM)

2.3.1-Informations générales

LDM est une entreprise familiale fondée en 1997 par les frères Mohamed, Ahmed et Mouloud ELAMMOUCHI; son activité consiste en l'importation et la production de produits pharmaceutiques à usage humains. Le groupe LDM assure:

- La fabrication, le conditionnement et la commercialisation des produits LDM;
- la fabrication, le conditionnement et la commercialisation par contrat de sous-licence des produits du laboratoire GlaxoSmithKline (GSK) (Panadol Extra 1g, Rhume-Grippe (R&G)) ;
- La fabrication et le conditionnement par contrat de sous-traitance avec plusieurs laboratoires fabricants de plusieurs spécialités pharmaceutiques, (PHARMETHIC, ABBOTT, SANOFI, SERVIER, TABOUK).
- L'importation et la distribution de produits pharmaceutiques et parapharmaceutiques ;
- La promotion médicale ;
- La formulation et développement.

LDM a un permis d'exploitation valide délivré par le ministère de la santé pour la fabrication des produits pharmaceutiques présentés sous les formes : sèches non antibiotiques, pâteuses (pommade, crème et gels) et conditionnement primaire des formes sèches antibiotiques non bétalactamiques. Les coordonnées du LDM sont les suivantes :

- Raison sociale: LDM groupe
- Forme juridique: société à responsabilité limitée
- Adresse : Zone industrielle Oued Hamimime – 25100 El Khroub – Constantine.
- Tél : 031 95 53 03 / 04
- Fax : 031 95 51 82
- Site internet : www.ldmgroupe.com
- Email : contact@ldmgroupe.com
- Logo :



2.3.2-Validation et Audit

Le laboratoire contrôle qualité a été doté d'une décision de validation par le Laboratoire Nationale de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP), renouvelable chaque 2 ans, suite à un audit réalisé par ce dernier et ce, dans le but d'effectuer le contrôle physico-chimique et microbiologique de différents produits.

2.3.3- Différentes formes et classes thérapeutiques fabriquées par LDM

LDM produit des médicaments sous forme de gélules, comprimés, poudre pour suspension buvable « forme sèche » et des gels, crème et pommades « forme semi solide » qui appartiennent à des classes thérapeutiques différentes tel que les Antipsychotiques, les Antihypertenseurs, les Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens, les Antiagrégant plaquettaire, les Antispasmodiques, les Antifongiques, les hypolipidémiant (FLUVASTATINE LDM[®] 40 mg FLUVASTATINE LDM[®] 80 mg), les Antipyrétique, les Anti-angoreux et les Antiépileptique.

2.3.4-Différentes unités du laboratoire de contrôle LDM

Le département de Contrôle de la Qualité (Logistique de contrôle de la qualité) est subdivisé en plusieurs unités fonctionnelles :

- Laboratoire de contrôle physico-chimique central.
- Laboratoire de contrôle microbiologique central.
- Laboratoire de contrôle en cours de fabrication (IPC).

Tableau1 Les différentes activités et les objectifs du chaque unité du laboratoire LDM

Laboratoires	Activités
<p>Laboratoire de contrôle microbiologique</p> <p>Réparti en plusieurs unités :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Une salle de stérilisation. -Une salle de préparation des milieux de cultures -Une salle de manipulation (ensemencement) et lecture. -Une salle de culture cellulaire. 	<ul style="list-style-type: none"> -Réalisation des analyses microbiologiques sur les matières premières et les produits finis. -Rédaction des comptes rendus d'analyses de contrôle microbiologique.
<p>Laboratoire de contrôle physico-chimique</p> <p>Comporte plusieurs salles différentes :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Une unité de contrôle comportant plusieurs chaînes HPLC, spectrophotomètre infrarouge et ultraviolet. -Une unité de développement de nouveaux produits. -Une unité de préparation et de manipulation physico chimique -Une salle de pesée. 	<ul style="list-style-type: none"> -Réalisation des analyses physico-chimiques sur les matières premières et les produits finis. -Rédaction des comptes rendus d'analyses de contrôle microbiologique.
<p>Laboratoire de Contrôle en cours de fabrication « <i>In process</i> »</p> <p>cette unité comporte une grande salle munie de différents appareils de contrôle de qualité.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Assurance de la conformité des substances actives selon les spécifications. -vérification des procédés pendant la production et ajustement des procédés si nécessaire

2.3.5- Processus de fabrication des formes pharmaceutiques

La fabrication des médicaments correspond à des opérations de production et de conditionnement. Les opérations de production comprennent plusieurs étapes : Contrôle des matières premières et des articles de conditionnement, fabrication proprement dite, contrôle de la qualité du produit fini, libération des lots fabriqués (reconnus conformes aux spécificités), stockage des lots de médicaments en attente de leur distribution.

Les principes actifs sont transformés en médicaments avant d'être distribués ou administrés à l'humain ou à l'animal. Ils sont mélangés à des adjuvants appropriés: liants, supports, aromatisants, diluants, conservateurs, colorants, antioxydants, etc. Les constituants des présentations pharmaceutiques sont séchés, broyés, mélangés, comprimés ou granulés en vue

d'obtenir la forme désirée. Les comprimés et les gélules sont des formes très courantes pour l'administration par voie orale, de même que les liquides stériles pour l'administration parentérale ou l'usage ophtalmique (Hecquard, 2010). La figure 1 illustre les opérations essentielles de fabrication des formes pharmaceutiques.

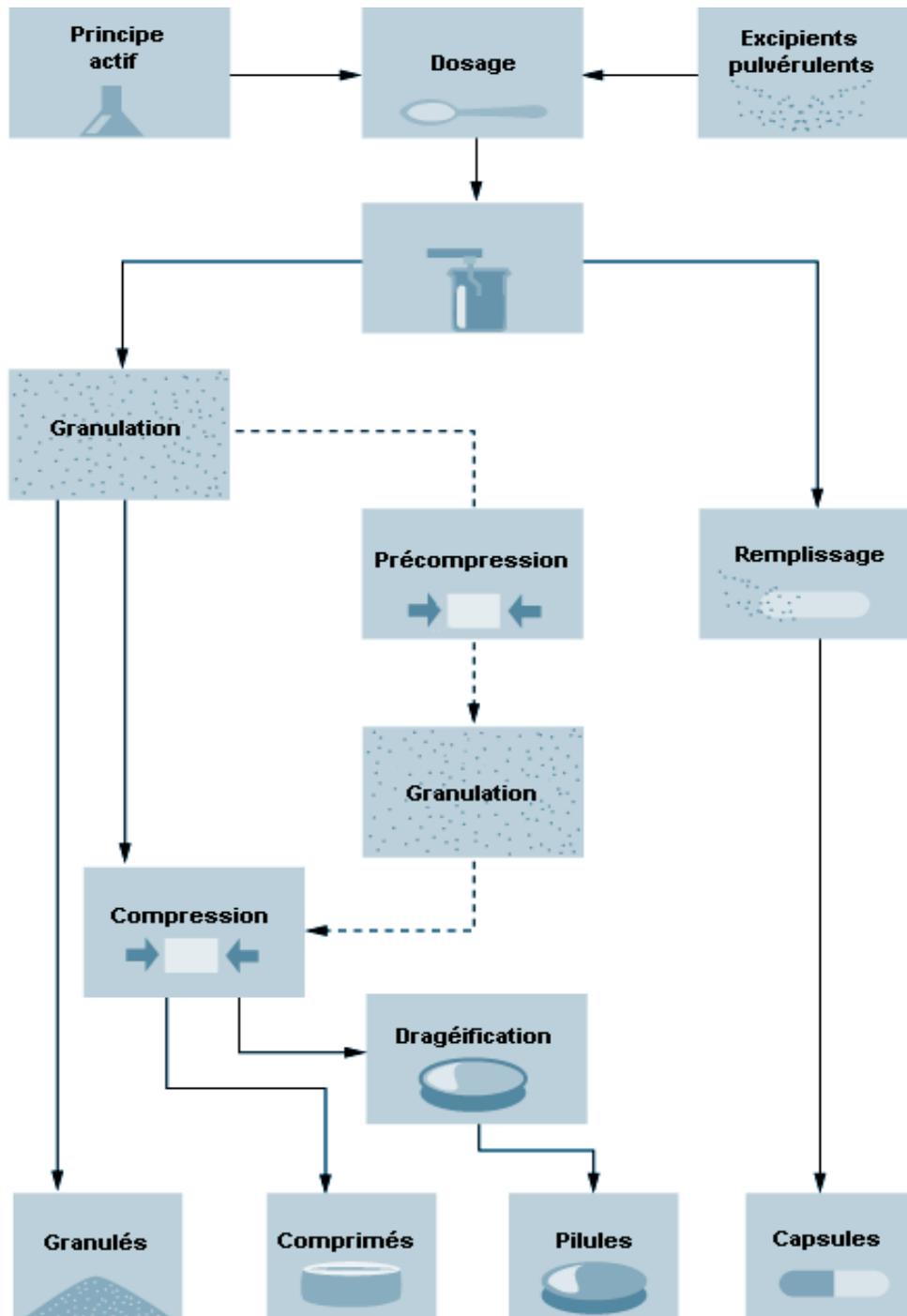


Figure 1 Fabrication des formes pharmaceutiques

Les mélanges pharmaceutiques peuvent être comprimés par granulation par voie humide, par compression directe ou par briquetage afin d'obtenir les propriétés physiques désirées avant d'être mis sous leur forme finale. Dans la granulation par voie humide, les ingrédients actifs et les excipients sont mouillés avec une solution aqueuse ou contenant des solvants pour donner des granulés grossiers à particules de grand calibre. Ces granulés sont séchés, mélangés à des lubrifiants (stéarate de magnésium), des désintégrants ou liants, puis transformés en comprimés par compression. Dans la compression directe, un poinçon comprime la quantité voulue de mélange contenu dans une matrice de métal. Les produits qui ne sont pas assez stables pour subir une granulation par voie humide ou une compression directe font l'objet d'un briquetage ou granulation par voie sèche. Ce procédé consiste à mélanger les constituants et à produire des comprimés relativement gros qui sont ensuite broyés et tamisés pour obtenir le calibre voulu. Le granulé obtenu est soumis à une dernière compression pour donner le comprimé final. Les substances mélangées et granulées peuvent également être préparées sous forme de gélules. Les capsules de gélatine dure sont séchées, ébarbées, remplies et formées dans des remplisseuses (Gennaro, 1990).

Les installations et les surfaces de travail doivent être nettoyées avec soin pour prévenir et limiter la contamination le plus possible. L'utilisation d'eau à température et sous pression élevées permet de détruire et de filtrer les bactéries et autres contaminants de l'eau stérile utilisée entrant dans la préparation de solutés injectables. Les liquides destinés à l'administration parentérale (voie sous-cutanée, intramusculaire ou intraveineuse) sont stérilisés à la chaleur sèche ou humide sous haute pression et filtrés pour retenir les bactéries. Les solutions à usage oral ou topique ne nécessitent pas de stérilisation, au contraire des collyres. On prépare les liquides buvables en mélangeant les matières actives avec un solvant ou un conservateur afin d'inhiber la croissance des moisissures et des bactéries. Les suspensions et les émulsions sont produites respectivement à l'aide de broyeurs colloïdaux et d'homogénéisateurs. Les crèmes et les onguents sont préparés par mélange ou incorporation des principes actifs à de la vaseline, des graisses lourdes, avant d'être conditionnés dans des tubes de métal ou de matière plastique (Segeon, 2005).

2.3.6- Présentation de la FLUVASTATINE LDM 80 mg

La FLUVASTATINE LDM 80 mg est un générique de la famille des statines ayant une action hypolipémiant. C'est un comprimé pelliculé à libération prolongée correspond à 80 mg de Fluvastatine sodique, dont les excipients sont : la Cellulose microcristalline, l'Opadry,

l'Hypromellose, le Stéarate de magnésium, le Bicarbonate de potassium, la Povidone et l'eau purifiée (Vidal 2007).

La formule brute de la Fluvastatine sodique est : $C_{24}H_{25}FNaO_4$, sa structure chimique est illustrée sur la figure 2, le médicament FLUVASTATINE LDM 80 mg est composé de la paire d'énantiomères:

- Acide (3R, 5S, 6E)-7-[3-(4-fluorophényl)-1-(propan-2-yl)-1H-indol-2-yl]-3,5-dihydroxyhept-6-énoïque
- Acide (3S, 5R, 6E)-7-[3-(4-fluorophényl)-1-(propan-2-yl)-1H-indol-2-yl]-3,5-dihydroxyhept-6-énoïque

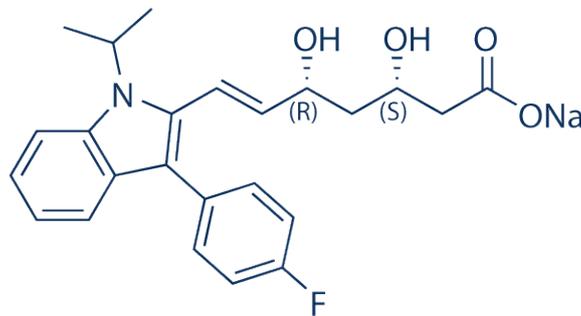


Figure 2 Structure chimique de la Fluvastatine Sodique (BOC Sciences, 2017).

La FLUVASTATINE LDM 80 mg est indiquée dans le traitement de l'hypercholestérolémie primaire et de l'hyperlipidémie mixte prescrit en complément d'un régime lorsque la réponse au régime et aux autres traitements non pharmacologiques n'est pas suffisante aussi, il est également indiqué chez les patients atteints de cardiopathie coronarienne en prévention secondaire des événements coronariens (décès d'origine cardiaque, infarctus du myocarde non-fatal et revascularisation coronarienne) après une intervention d'angioplastie coronaire .

Il est important de signaler que ce médicament a été choisi dans le présent travail, pour plusieurs critères :

- Un comprimé à Libération Prolongée (LP), qui contient un principe actif et plusieurs excipients;
- Nécessite une maîtrise de la technologie pour assembler les excipients à des doses bien définis ;

- Un médicament destiné aux malades cardiaques chroniques.

2.3.7- Présentation des excipients

2.3.7.1- Cellulose microcristalline

la cellulose microcristalline ($C_{12}H_{22}O_{11}$) est une poudre blanchâtre, elle est largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique au moment des formulations pharmaceutiques, principalement utilisé comme émulsifiant, stabilisateur, agent antiagglomérant et dispersion c'est à dire elle assure la fluidité de la solution en évitant l'accumulation de particules utilisée aussi comme adsorbant, des agents de suspension, des diluants, des agents de désintégration. La cellulose microcristalline peut également être utilisée pour une libération prolongée de médicaments grâce à la structure poreuse du support polymère, l'eau diffuse à l'intérieur du comprimé et traduit un gonflement du capillaire la pénétration d'eau dans le noyau génère une pression osmotique permettant l'expulsion du principe actif à travers l'orifice de sortie à vitesse constante et lentement (Codex Œnologique International, 2002).

2.3.7.2- Hypromellose

L'Hypromellose est utilisé comme excipient dans des comprimés oraux et des formulations de gélules, il fonctionne comme agent de libération retardée d'un composé de médicament dans le tube digestif. Il est également utilisé en tant que liant et comme une composante des revêtements de comprimé. L'hypromellose est solide et se présente sous forme de poudre de couleur blanc cassé léger à beige. Le composé forme des colloïdes solubles dans l'eau. Hypromellose dans une solution aqueuse, à la différence de la méthylcellulose, montre une propriété de gélification thermique. C'est-à-dire lorsque la solution chauffe jusqu'à une température critique, la solution se fige dans une situation de masse non fluide mais semi-souple (Raymond, 2009).

2.3.7.3- Povidone

Povidone est un hygroscopique polymère $(C_6H_9NO)_n$, en blanc à blanc crème poudre ou flocons, allant de faible à haute viscosité et faible à haute poids moléculaire, il est facilement soluble dans l'eau et de nombreux autres solvants organiques, avec une excellente hygroscopie, il est utilisé comme: liant, sucre de revêtements, agent épaississant, améliore la solubilité des médicaments peu solubles, augmente la biodisponibilité des principes actifs (Winek, 2000).

2.3.7.4- Opadry

L'Opadry est un revêtement de film aqueux à base de (polyvinyle-alcool), ce revêtement offre un haut niveau de rétention d'humidité et une stabilité améliorée de la couleur du produit final combinée à des temps de traitement rapides. Ce revêtement est recommandé comme revêtement immédiat pour utilisation avec des produits génériques nécessitant une protection contre l'humidité (Zaid. et al. 2012).

2.3.7.5- Stéarate de magnésium

Le Stéarate de Magnésium ($\text{Mg}(\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O}_2)_2$) est composé du sel contenant deux équivalents de stéarate (l'anion d'acide stéarique) et un cation de magnésium (Mg^{2+}). Le stéarate de magnésium est une poudre blanche, insoluble dans l'eau. Ses applications exploitent leur douceur, leur insolubilité dans de nombreux solvants et une faible toxicité. Il est utilisé comme agent de démoulage et comme composant ou lubrifiant dans la production de produits pharmaceutiques et cosmétiques (Pifferi. and Restani . 2003).

2.3.7.6 - Bicarbonate de potassium

Le bicarbonate de potassium KHCO_3 est utilisé pour la désacidification, il donne avec l'acide tartrique, des sels insolubles (KTH) (Raymond, 2009).

2.3.7.7- Eau

L'eau est un liquide d'une importance capitale dans l'industrie, elle constitue un précieux véhicule qui occupe un rôle de premier plan en technologie. En effet, grâce à ses propriétés salvatrices, elle permet l'extraction des principes actifs d'un milieu complexe par son inertie physiologique. Elle est le véhicule idéale pour apporter à l'organisme les substances médicamenteuses, et entre dans la constitution de nombreuses formes pharmaceutiques (soluté, sirop, potions, émulsions, suspensions .L'eau utilisée en pharmacie doit posséder un degré de pureté minimale pour répondre aux critères imposés par la sévérité des contrôles, tant sur le plan chimique que biologique (Guichard, 1967).

2.3.7.7.1-Différents types d'eau à usage pharmaceutique

Dans un ordre de purification croissant, il est possible de classer l'eau selon les types suivants: l'eau potable, l'eau purifiée (par élimination des ions) et l'eau purifiée par distillation.

➤ **Eau potable**

Elle est d'une richesse minérale très variable selon son origine. Sur le plan biologique, elle n'est pas bactériologiquement pure, mais elle ne doit pas renfermer de micro-organismes pathogènes (Guichard, 1967).

➤ **Eau purifiée**

L'eau purifiée ne contient que des molécules H₂O et des ions (H⁺ et OH⁻) en équilibre. Il est obtenu par élimination des ions, soit par inter réaction avec des substances échangeuses d'ions, soit par électro-osmose.

Elle est souvent un stade intermédiaire intéressant, en vue de l'obtention de l'eau distillée. L'eau purifiée est une eau destinée à la préparation de médicament autre que ceux qui doivent être stériles et exempts de pyrogènes (Alain, 1997).

➤ **Eau pour préparations injectables (PPI)**

L'eau pour préparations injectables est une eau destinée à la préparation des médicaments pour administration parentérale. Elle est produite à partir d'eau potable ou d'eau purifiée. La méthode prescrite par la Ph. euro est la distillation ; dont, elle doit être conforme aux valeurs limites pour les taux de particules visibles et non visibles. L'eau PPI ne doit pas contenir d'additif (Beutler et al., 2003).

2.4-Techniques de prélèvement des échantillons

2.4.1- Bonnes pratiques d'échantillonnage

L'échantillonnage est une opération importante au cours de laquelle on ne prélève qu'une petite partie d'un lot. La représentativité de l'échantillon est fondamentale, puisque les résultats obtenus sur l'échantillon sont ensuite extrapolés à l'ensemble du lot. Un échantillonnage correct constitue donc un élément essentiel d'un système d'assurance qualité.

De plus, l'échantillonnage et les opérations du prélèvement interviennent tout au long du procédé de production d'un produit pharmaceutique, dès la réception des matières premières ; excipients et des articles de conditionnement, aux produits fini (WHO, 2016).

L'échantillonnage est réalisé par des cadres ou techniciens des laboratoires de contrôle qualité, qualifiés et dédiés aux prélèvements, ou par le personnel de l'assurance qualité.

2.4.2- Plan d'échantillonnage

L'échantillonnage se fait dans des conditions d'asepsie et effectué avec soin, au moyen du matériel et des outils appropriés. Toute contamination de l'échantillon par de la poussière ou d'autres substances étrangères risque de compromettre la validité des analyses ultérieures. Chaque unité d'échantillonnage est examinée par l'opérateur, il numérottera dans l'ordre chaque unité d'échantillonnage et il sélectionne le nombre requis des échantillons qui repose sur le plan « **n** » .

➤ *Le «plan n»*

Le «plan n» est utilisé uniquement lorsque la substance est jugée uniforme et provient d'un fabricant bien connu. Les échantillons sont prélevés dans n'importe quelle partie du récipient (généralement dans la couche supérieure). Le «plan n» est calculé selon la formule suivante

$n = \sqrt{N}$ dont : **N** est le nombre d'unités d'échantillonnage dans l'arrivage (futs ou cartons ou autres). Selon ce plan, les échantillons originaux sont prélevés dans **n** unités d'échantillonnage choisies au hasard puis mis dans des récipients individuels. L'opérateur examine l'aspect et l'uniformité de la substance et vérifie l'identité de chaque échantillon original en fonction des normes préétablis par le fournisseur et le service de contrôle qualité. Les échantillons sont groupés en un échantillon final pour effectuer les différentes analyses (Ph. Eur. 8^{ème} édition) .

2.5-Stabilité des médicaments

Un médicament est considéré comme pratiquement stable lorsque, dans un laps de temps déterminé, ses propriétés essentielles chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques ne changent pas ou changent au plus dans des proportions tolérables; de plus, il est entendu que le médicament doit être conservé dans des conditions appropriées et prescrites de température, d'humidité et d'exposition à la lumière (ICH Q10, 2013).

Les paramètres de stabilités des médicaments sont : chimique (teneur en principe actif [95-105%]); physique (aspect, goût) microbiologique (contamination ou prolifération bactérienne); thérapeutique (effet thérapeutique inchangé); toxicologique (pas d'augmentation de la toxicité (produits de dégradation).

La date de péremption doit obligatoirement figurer sur les emballages (ex = 31.décembre 2009), en conservant 90% du principe actif intact et en respectant les prescriptions de stockage du fabricant.

Les facteurs d'instabilité des médicaments sont : la contamination bactérienne, l'eau, l'humidité par hydrolyse, la lumière par photo dégradation, l'oxygène par oxydation, la température (haute ou basse) par catalyse.

2.6- Formes galéniques

2.6.1- Formes galéniques simples

La pharmacie galénique est l'art de préparer, conserver et présenter les médicaments et chaque forme galénique se compose du principe actif et des excipients.

Les comprimés sont les formes galéniques orales les plus fréquemment fabriqués par compression d'un mélange de poudre constitué du principe actif et d'excipients. Ils peuvent être enrobés ou non. Les comprimés non enrobés doivent se désagréger en moins de 15 minutes. Pour les comprimés enrobés, le temps de désagrégation dépend de la nature de l'enrobage. Ce dernier peut être constitué de substances diverses : résines, gommés, sucres, colorants, etc. et ce, en fonction du type d'enrobage.

2.6.2-Formes galéniques spéciales

Pour certains médicaments, il existe des formes orales dites à libération modifiée, dont la vitesse de libération du principe actif est différente de celle d'une forme pharmaceutique conventionnelle destinée à la même voie d'administration. On distingue ainsi les formes à libération accélérée, différée, et ralentie ou prolongée.

La phase biopharmaceutique d'un médicament précède l'absorption du principe actif à travers les membranes biologiques (muqueuse gastro-intestinale par exemple) qui permet à celui-ci de pénétrer dans la circulation systémique après passage dans le foie. Elle comprend l'étape de désagrégation de la forme solide en particules de petite taille, suivie d'une étape de dispersion du principe actif à l'état moléculaire en milieu aqueux.

2.6.2.1-Formes galéniques à libération modifiée

➤ Formes à libération accélérée

Les comprimés à libération accélérée sont formulés de façon à obtenir un temps de désagrégation court. Ils comprennent : comprimés effervescents comprimés orodispersibles.

➤ Formes à libération différée

Ces formes galéniques sont destinées à libérer le principe actif à un moment différent par rapport à une forme conventionnelle. Ce sont par exemple les comprimés gastro-résistants, formulés de façon à résister aux sucs gastriques puis à se désagréger dans l'intestin. Leur but est la protection du principe actif contre une dégradation par les acides de l'estomac, la protection de la muqueuse gastrique contre une irritation par le principe actif, une libération différée du principe actif dans l'intestin peut être obtenue en enrobant le comprimé d'un film gastro-résistant (Aspirine® Cardio).

2.6.2.2-Formes à libération ralentie ou prolongée

Plusieurs technologies pharmaceutiques permettent de prolonger la libération d'un principe actif et ainsi de réduire la fréquence d'administration en comparaison aux médicaments conventionnels. La vitesse de libération du principe actif peut simplement être prolongée par la présence d'un enrobage. Exemple : FLUVASTATINE LDM 80 mg LP comprimé filmé (Codex Œnologique International, 2002).

2.6.2.3-Intérêt de la forme galénique LP

Du point de vue industriel c'est une innovation, elle permet la synthèse et la commercialisation de nouveaux principes actifs, aussi elle permet l'amélioration d'une molécule existante par l'optimisation de sa forme galénique.

Du point de vue scientifique et du patient « compliance » ou observance principe du « once a day », maîtrise de la quantité de PA délivrée plus faible par unité de temps, moins d'effets secondaires.

2.7- Techniques de contrôle physico-chimiques les plus utilisées en industrie pharmaceutique

Parmi les techniques de contrôles physicochimiques, la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et spectrophotométrie infrarouge sont les plus préconisés par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

2.7.1-Chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP)

La chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) ou plus fréquemment l'abréviation anglaise HPLC (*High pressure liquid chromatography*) (1990) est une technique de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules présentes dans un mélange, elle permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification (Morrison, 2014).

A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC) (figure 3).

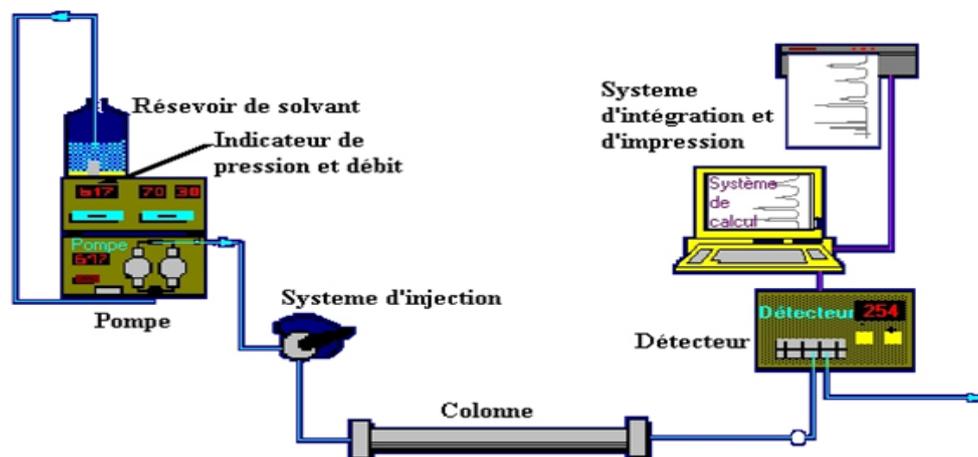


Figure 3 Schéma d'une chaîne d'HPLC (Morrison, 2014).

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les « grains » sont de très petite taille). Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour

séparer les composants le long de la phase stationnaire. En effet, pour un même volume de phase stationnaire la surface d'échange augmente si les « grains » qui la composent sont de diamètre plus petit. Les pics obtenus et plus étroits donc la résolution est améliorée, le seuil de détection est également plus bas la combinaison de ces attributs rapidité et résolution élevées conduit à l'appellation « haute performance ». Les phases mobiles utilisées sont des mélanges d'eau et d'un solvant organique miscible ou des combinaisons de solvants organiques miscible entre eux. Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit « gradient » ou « élution graduée » (en opposition au mode « isocratique », pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de la séparation).

Les résultats obtenus sont sous la forme d'un chromatogramme (figure4), qui retrace représentativement la concentration de chaque constituant en fonction du temps, dont un pic représente une molécule.

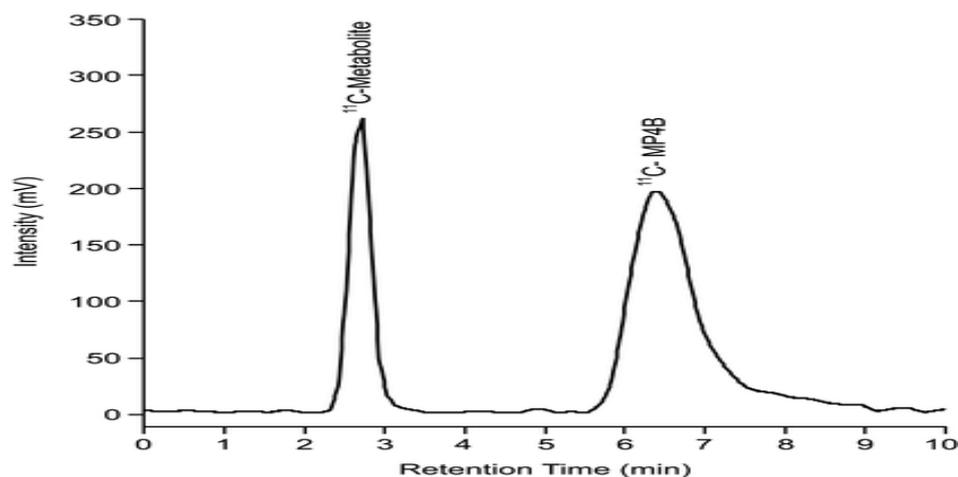


Figure 4 Chromatogramme

2.7.2- Spectroscopie infrarouge

Le rayonnement infrarouge (IR) fut découvert en 1800 par Frédéric Wilhelm Hershel. Ces radiations localisées au-delà des longueurs d'onde dans le rouge, sont situées entre la région du spectre visible et des ondes hertziennes. Le domaine infrarouge s'étend de 0,8 μm à 1000 μm . Il est arbitrairement divisé en 3 catégories, le proche infrarouge (0,8 à 2,5 μm soit 12500-4000 cm^{-1}), le moyen infrarouge (2,5 à 25 μm soit 4000-400 cm^{-1}) et le lointain infrarouge (25 à 1000 μm soit 400-10 cm^{-1}). Dès 1924, on s'est aperçu que l'énergie du rayonnement infrarouge moyen coïncidait avec celle des mouvements internes de la molécule (Mayé, 2003), Ainsi, la relation entre l'absorption d'un rayonnement IR par une molécule et sa

structure moléculaire est mise en évidence (figure 5-B) Même si les régions du proche IR et du lointain IR ont suscité un certain intérêt, l'utilisation de la spectroscopie moyen IR reste la plus adaptée pour l'élucidation de la composition moléculaire d'un composé. Les spectromètres IR sont construits à partir d'éléments principaux, avec quelques différences au niveau des matériaux utilisés (figure 5-A) ou de leur montage selon le domaine de l'IR exploité et selon le type d'interaction entre la matière et le rayonnement (Rogoo, 2010).

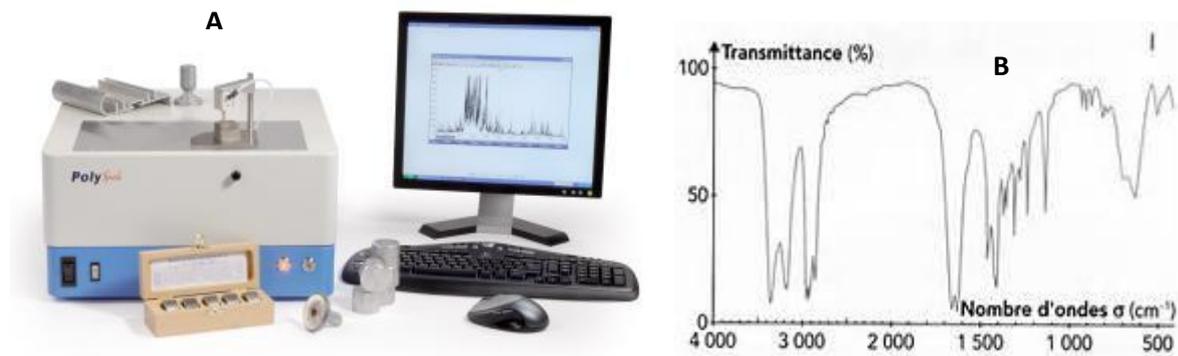


Figure 5 Système du spectromètre infrarouge : A, spectromètre ; B, spectre (Rogoo, 2010).

Matériel et méthodes

3. Matériel et méthodes

Le présent travail ayant pour objet, le contrôle de qualité physico-chimique et microbiologique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg, à partir de la matière première jusqu'au produit fini afin de déterminer sa conformité par rapport aux normes de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition. La partie expérimentale a été réalisée aux différents laboratoires de l'unité LDM ; à savoir, le laboratoire de contrôle de qualité physico-chimique, le laboratoire de microbiologie, ainsi que le laboratoire disponible au sein de la production (*In Process*) et ce, dans le but de contrôler la qualité du médicament testé et aussi de maîtriser le bon fonctionnement des appareils et leur fiabilité.

3.1- Contrôle physico-chimique des substances testées

Afin d'assurer le contrôle de la qualité physico-chimique de la matière première du principe actif (Fluvastatine sodique), des différents excipients (cellulose microcristalline, Hypromellose, stéarate de magnésium, opadry, potassium, povidone, eau purifiée) et du produit fini (FLUVASTATINE LDM 80 mg), plusieurs essais sont exigés par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition, à savoir : les essais liés à la nature et dosage du principe actif (caractères), les essais d'identification, le dosage de diverses impuretés et les essais pharmaco techniques (pH, métaux lourds, la teneur en eau, conductivité, cendres sulfuriques, cendres totaux...etc.).

3.1.1- Contrôle physico-chimique de la matière première

3.1.1.1-Principe actif (Fluvastatine sodique)

Le contrôle physico-chimique du principe actif (Fluvastatine sodique) a été effectué sur trois lots en l'occurrence: le lot 0610217(4 futs), le lot 0620217(3futs) et le lot 0630217 (2 futs).

3.1.1.1.1- Caractères

L'aspect du principe actif des lots, cités précédemment, a été vérifié à l'œil nu, ainsi que la solubilité du principe actif a été testée dans différents solvants (tableau 2). La lecture est faite après 20 à 30 secondes.

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

Masse (g)	Solvants	Quantité (ml)
0.1	Acétonitrile	100
1	Méthanol	10
10	Eau	30

3.1.1.1.2- Identification

L'identification du principe actif a été effectuée par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (Perkin Elmer, Spectrum 100 FT-IR spectromètre), et ce, dans le but d'assurer que la matière première testée correspond au principe actif spécifié par le fabricant. Pour ce faire, 2 mg de chaque échantillon (de chaque fut) ont été pesés et additionnés séparément avec 300 mg de Bromure de potassium (KBr), le mélange obtenu a été broyé et versé dans un moule (figure 6- A) afin d'obtenir des pastilles distinctes (figure 6- B). L'emplacement de ces pastilles dans le support de l'IR permettant d'obtenir les différents spectres. La pureté du principe actif a été comparé avec un Standard de Contrôle et de Référence (SCR). La lecture a été effectuée sur spectrophotomètre infrarouge lié à un ordinateur.

**Figure 6** Préparation des pastilles du principe actif

3.1.1.1.3- Essais

Des différents essais ont été effectués dans le but de tester les différents paramètres du principe actif en l'occurrence ; le pH, la recherche des impuretés (substances apparentées), la teneur en eau et les métaux lourds. Les différents tests nécessitent la préparation de la solution S suivante : 1g du principe actif a été dissous dans 20 ml d'eau exempte de dioxyde de carbone R (Annexe 02).

➤ **pH**

Le pH de la solution S préparé, pour chaque lot, a été mesuré à l'aide d'un pH mètre pour contrôler le degré d'alcalinité.

➤ **Recherche des impuretés (substances apparentées)**

La recherche des impuretés a été réalisée par la Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) (Waters Alliance 2695), couplée avec la spectrophotométrie UV/visible (Waters 2489). Toutes les impuretés contenues dans le principe actif ont été recherchées et identifiées quantitativement, dans le but d'assurer que les teneurs en substances apparentées se situent dans les normes de concentrations acceptées par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition. Avant de lancer L'HPLC, deux phases mobiles et trois solutions ont été préparées (à l'abri de la lumière) comme suit :

Phase mobile A

1760 ml d'eau purifiée ont été mélangés avec 40 ml de solution d'hydroxyde de tetramethylammonium R (Annexe 02), puis additionnés avec 200 ml du mélange (40% d'acétrontrile + 60 % méthanol), le pH du mélange obtenu a été ajusté à 7.2.

Phase mobile B

160 ml d'eau purifiée ont été mélangées avec 40 ml de solution d'hydroxyde de tetramethylammonium, puis additionnées avec 1800 ml du mélange (40% d'acétrontrile + 60 % méthanol), le pH du mélange obtenu a été ajusté à 7.2.

Solution à examiner

25 mg de Fluvastatine sodique ont été dissous dans 20 ml de la phase mobile B, le mélange obtenu a été complété à 50 ml avec la phase mobile A.

Solution témoin (a)

1 ml de la solution à examiner a été prélevée et complété à 10 ml avec la phase mobile A, puis 1 ml de ce dernier a été prélevée et complétée à 50 ml avec la même phase mobile.

Solution standard

La poudre du Conformité du Système SCR (contenant les impuretés A, B et D) a été dissoute dans 1 ml du mélange de la phase mobile A et B (50%, 50%).

Blanc

Le blanc nécessite la préparation d'un mélange de 1 ml de la phase mobile A et 1 ml de la phase mobile B.

Les viales ont été remplies avec les trois solutions puis placées dans le carrousel d'HPLC afin de les analyser (figure 7).

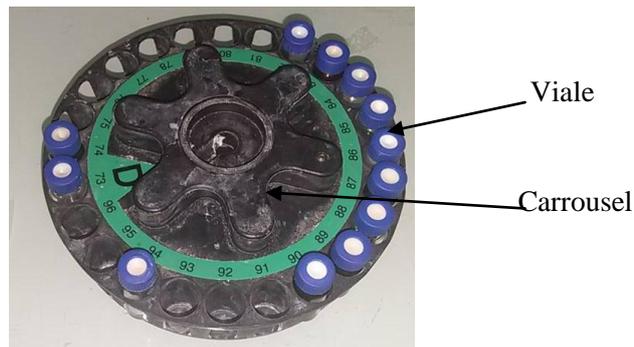


Figure 7 Carrousel d'HPLC

Les paramètres de la colonne utilisée pour HPLC sont illustrés dans le tableau 3, et le système de gradient a été validé selon les conditions de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition (tableau 4). La lecture a été effectuée par spectrophotomètre UV/visible lié à un ordinateur.

Tableau 3 Paramètre de la colonne HPLC

Dimension	L =0.10m, D =4.6mm
Phase stationnaire	gel de silice octylsilylé post greffé R (3 µm)
Température	40 °C
Débit	2.0ml /min
Injection	20 µl
Détection	spectrophotomètre (305 nm et 365 nm)

Tableau 4 Système de gradient

Intervalle (min)	Phase mobile A (%)	Phase mobile B (%)
0- 3	70	30
3- 25	70-10	30-90
25- 28	10	90

➤ *La teneur en eau*

La détermination de la teneur en eau dans la matière première sèche est nécessaire pour déterminer la quantité d'eau incluse dans le principe actif aussi pour son dosage, pour ce faire, 200 mg de la Fluvastatine sodique ont été introduits dans un godet puis le dosage se fait automatiquement par le titrateur. La teneur en eau a été affichée sur Karl Fischer (KF) (figure 8). Le résultat de la teneur en eau doit être $\leq 12\%$.



Figure 8 Karl Fischer

➤ *Les métaux lourds*

Certains métaux lourds sont toxiques même à faibles concentrations. C'est pourquoi la pharmacopée européenne 8^{ème} édition détermine des valeurs seuils pour protéger les patients et garantir leur sécurité. Afin de réaliser ce test, trois tubes contenant différentes solutions (Annexe 01) ont été mélangés avec 2 ml de solution tampon (pH= 3.5) (Annexe 02) et 1.2 ml de réactif thioacétamide. La lecture a été faite en comparant la coloration de la solution à examiner avec le blanc et le témoin. La recherche des métaux lourds ont été détectés après 2 min en respectant la norme indiquée par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition (≤ 10 ppm).

3.1.1.1.4- Dosage

Le test du dosage permet de s'assurer que la quantité moyenne du principe actif déterminée dans la Fluvastatine sodique se trouve dans les limites de concentrations exigées par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition [98.5 -101.5], et ce, pour obtenir l'effet thérapeutique escompté. Pour ce faire, 0.325g de Fluvastatine sodique ont été dissoute dans 50 ml d'acide acétique glacial, puis titré avec l'acide perchlorique 0.1 M (Annexe 02). La détermination du point d'équivalence a été faite par un potentiomètre.

3.1.1.2- Excipients

La FLUVASTATINE LDM 80 mg comporte sept excipients dont: la cellulose microcristalline, hypromellose, le stéarate de magnésium, l'opadry, le bicarbonate de potassium, povidone et l'eau purifiée, en effet, seulement quatre excipients sont présentés dans le présent travail.

3.1.1.2.1- Excipient 1: Cellulose microcristalline

3.1.1.2.1.1- Caractères

L'aspect de la cellulose microcristalline du lot 0401016, a été vérifié à l'œil nu, ainsi que sa solubilité a été testée dans différents solvants (tableau 5). La lecture est faite après 20 à 30 secondes.

Tableau 5 Différents solvants utilisés pour tester la solubilité de la cellulose microcristalline

Masse (mg)	Solvants	Quantité (ml)
10	Acétone	100
10	Eau	100
10	Ethanol	100
10	Toluène	100
10	Acide	100
10	Hydroxyde de sodium	100
50	Solution ammoniacale de tétramminecuivre	10

3.1.1.2.1.2-Identification

L'identification de la cellulose microcristalline a été effectuée par un test colorimétrique. 10 mg de la cellulose microcristalline ont été placés sur un verre de montre, puis dilués avec 2 ml de solution de chlorure de zinc iodée (Annexe 02), le test est considéré conforme si la couleur de la substance obtenue est bleu-violet.

3.1.1.2.1.3-Essais

Les essais exigés par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition pour tester les différents paramètres de la cellulose microcristalline sont : le pH, la conductivité, les substances solubles dans l'eau, les métaux lourds, la perte à la dessiccation et la cendre sulfurique.

➤ *pH*

5 g de la cellulose microcristalline ont été mélangés avec 40 ml d'eau exempte de dioxyde de carbone et agités pendant 20 min. Le mélange obtenu a été centrifugé à 2500 tr/min pendant 10 min, le pH du surnageant a été mesuré à l'aide d'un pH mètre.

➤ *Conductivité*

La conductivité de la cellulose microcristalline a été réalisée par conductimètre (METTLER TOLEDO) (figure 8). L'électrode en verre a été plongée dans le surnageant obtenu dans l'essai du pH et dans de l'eau nécessaire pour la préparation de la cellulose microcristalline. La différence entre les deux valeurs affichées a été comparée par rapport à la norme de la pharmacopée européenne qui doit être $\leq 75 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

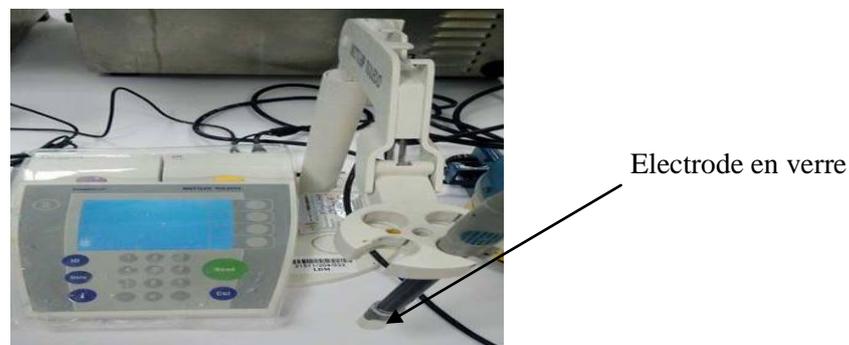


Figure 9 Conductimètre

➤ *Les substances solubles dans l'eau*

5 g de la cellulose microcristalline ont été mélangés avec 80 ml d'eau purifiée et agités pendant 10 min, le mélange obtenu a été filtré sous vide, puis le filtrat a été recueilli dans un creuset (figure 10), ensuite, desséché dans l'étuve à 105°C pendant 1 h, puis pesé ; un essai à blanc (eau purifiée) a été effectué pour calculer la différence entre la masse du résidu et celle correspondant au blanc.

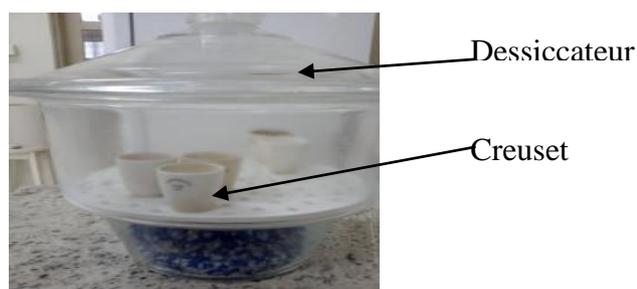


Figure 10 Dessiccateur de silice

➤ **Métaux lourds**

Ce test nécessite la préparation des trois tubes contenant 12 ml des différentes solutions (Annexe 01), additionnées avec 2 ml de la solution tampon (pH 3.5) et 1.2 ml de réactif au thioacétamide. Le mélange obtenu de chaque solution a été examiné visuellement après 2 min. La coloration de la solution à examiner a été comparé au blanc et à la solution témoin. Le test est considéré conforme si la couleur de la solution à examiner est moins intense que celle du témoin.

➤ **Perte à la dessiccation**

Ce test consiste à déterminer la proportion de l'eau dans la cellulose microcristalline qui susceptible d'être éliminée par la chaleur. Un creuset vide a été séché dans l'étuve (105°C) pendant 5 min et pesé (W_1), ensuite, 1 g de la cellulose microcristalline a été introduit dans le creuset et pesé (W_2) puis transféré dans l'étuve (105°C) pendant 2h, après cette période le creuset a été pesé à nouveau pour enregistrer sa masse (W_3). Le pourcentage de la limite de détection (LOD) est calculé selon la formule suivante:

$$\text{LOD \%} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100$$

➤ **Cendres sulfuriques**

Un creuset vide a été séché dans un four à moufle (600°C) pendant 10 min, après le refroidissement, le creuset a été pesé (W_1), ensuite 1g de la cellulose microcristalline a été introduit dans le creuset et pesé (W_2), la substance a été humectée par 1 ml d'acide sulfurique, le creuset a été transféré sur plaque chauffante jusqu'à calcination, puis a été transféré dans le four à moufle pendant 2h, après ce temps le creuset a été refroidit et pesé pour la troisième fois (W_3). Le calcul des Cendres Sulfuriques (Cs) est fait selon la formule suivante:

$$\text{Cs (\%)} = 100 - \left[\frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100 \right]$$

3.1.1.2.2- Excipient 2 : Stéarate de magnésium

3.1.1.2.2.1- Caractères

L'aspect du stéarate de magnésium du lot 0530117, a été vérifié à l'œil nu, ainsi que sa solubilité a été testée dans différents solvants (tableau 6). La lecture est faite après 20 à 30 secondes.

Tableau 6 Différents solvants utilisés pour tester la solubilité du stéarate de magnésium

Masse (mg)	Solvants (ml)	Quantité (ml)
5	Éthanol anhydre	50
5	Eau	50

3.1.1.2.2.2- Identification

Trois testes (A, B et C) ont été effectués afin d'identifier la substance du stéarate de magnésium. Pour ce faire, la solution S a été préparée comme suit : 5 g du stéarate de magnésium ont été additionnés avec 50 ml d'éther exempt de peroxydes, ensuite 20 ml d'acide nitrique dilué (Annexe 02) et 20 ml d'eau purifiée ont été rajoutés au mélange puis chauffé jusqu'à dissolution complète. La solution obtenue a été séparée dans une ampoule à décantation, puis le volume a été complété à 50 ml avec de l'eau purifiée. La phase étherée a été évaporée puis le résidu obtenu a été desséché à 105°C.

➤ *A-Point de solidification*

1 g de résidu obtenu de la préparation précédente a été mis au four à 53 °C, puis le point de solidification a été déterminé. Le test est considéré conforme si le point de cristallisation est atteint à une température $\geq 53^\circ\text{C}$.

➤ *B- Indice d'acide*

0,2 g du résidu obtenu ont été dissous dans 25 ml du mélange de solvants d'éthanol et d'éther de pétrole (50/50 ml), le mélange obtenu a été chauffé à 90°C pour dissoudre le résidu. Le mélange de solvants utilisé a été neutralisé par hydroxyde de sodium (NaOH), en présence de 0,5 ml solution phénolphtaléine (Annexe 02), le titrage a été terminé lorsque la couleur rose prescrite est apparue après 15 sec . L'indice d'acide est calculé selon la formule suivante :

$$I_a = \frac{5,610 n}{m}$$

Dans laquelle :

n : le volume du réactif titrant.

m : la masse de stéarate de magnésium.

➤ **C-Précipitation**

1 ml de solution S de la préparation précédente a été ajouté à 1 ml d'ammoniaque dilué R1 pour former un précipité blanc puis additionné avec 1 ml de solution phénolphtaléine et 1 ml d'une solution de phosphate di-sodique (120 g /l) , le mélange obtenu doit être un précipité cristallin blanc.

3.1.1.2.2.3- Essais

Afin de déterminer la conformité de la substance stéarate de magnésium plusieurs essais sont exigés par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition : acidité ou alcalinité, chlorure, sulfate et perte à la dessiccation.

➤ **Acidité ou alcalinité**

1 g de stéarate de magnésium a été mélangé avec 20 ml d'eau exempte de dioxyde de carbone, le mélange obtenu a été chauffé à ébullition pendant 1 min avec agitation. Après le mélange a été filtré et 10 ml de ce dernier a été additionné avec 0.05 ml de solution de bleu de bromothymol R4 et 0.05 ml d'hydroxyde de sodium 0.1 M .Un virage de couleur vers le bleu, confirme l'acidité de la solution.

➤ **Chlorure**

10 ml de solution S ont été prélevés et complétés à 40 ml avec de l'eau purifiée, le mélange obtenu a été neutralisé avec 1 ml d'acide nitrique et quelques gouttes du tournesol ont été additionné comme indicateur, puis 1 ml de nitrate d'argent 0,1 M (Annexe 02) a été ajouté , le mélange obtenu a été complété à 50 ml avec de l'eau purifiée, la présence de chlorure est basée sur la présence ou non de l' opalescence.

➤ ***Sulfate***

6 ml de solution S ont été complétés à 40 ml avec de l'eau purifiée, le mélange obtenu a été neutralisé avec de l'acide chlorhydrique (3M) et quelques gouttes du tournesol ont été utilisés comme indicateur, ensuite 1 ml d'acide chlorhydrique (3 M) et 3 ml d'une solution de chlorure de baryum à 120 g/ L ont été rajoutés, le mélange obtenu a été complété à 50 ml avec de l'eau purifiée. L'interprétation des résultats est basée sur la présence ou non de l'opalescence.

➤ ***Perte à la dessiccation***

Le même protocole de la cellulose microcristalline a été utilisé pour déterminer la perte à la dessiccation du stéarate de magnésium.

3.1.1.2.2.4- Dosage

0.5 g de stéarate de magnésium ont été introduits dans une fiole conique de 250 ml puis additionnés avec 50 ml d'un mélange de solvant d'éthanol anhydre- butanol. La solution obtenue a été mélangée avec 5 ml d'ammoniaque concentrée (1M), 3 ml de solution tampon chlorure d'ammonium (pH 10) , 30 ml d'édétate de sodium(0.1 M) (Annexe 02) et 15 mg de mélange composé au mordant noir 11 R (Annexe 02). Le mélange obtenu a été chauffé à 45- 50 °C jusqu'à dissolution complète, puis titré par le sulfate de zinc (0.1 M) (Annexe 02), jusqu'au virage du bleu au violet. Un titrage à blanc a été effectué et le dosage de stéarate de magnésium doit être entre 4 et 5 %.

3.1.1.2.3- Excipient 3 : Opadry

3.1.1.2.3.1- Caractères

L'aspect du opadry du lot 0180415, a été vérifié à l'œil nu pour tester sa couleur et son homogénéité.

3.1.1.2.3.2-Identification

L'identification de la substance opadry a été réalisée par la spectrophotométrie IR, la même technique a été faite pour identifier le principe actif (Fluvastatine sodique).

3.1.1.2.3.3- Essais

Deux essais ont été réalisés pour déterminer la conformité de l'opadry avec les normes de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

➤ *La dispersion*

8.5 g d'eau purifiée et 1.5 g du opadry ont été introduits dans une fiole jaugée de 50 ml, la solution obtenue a été versée dans un tamis de 150 µm, puis lavée avec une quantité suffisante d'eau purifiée afin de s'assurer que toute la solution a traversé le tamis.

➤ *Cendres totales*

Un creuset de silice a été chauffé à 800 °C pendant 30 min, puis pesé (W_1), ensuite 1 g d'opadry a été introduit dans le creuset puis pesé (W_2), ce dernier a été chauffé jusqu'à carbonisation complète, puis il a été pesé à nouveau (W_3). Le pourcentage des Cendres Totales (CT) est calculé selon la formule suivante:

$$Ct \% = \frac{W_3 - W_1}{W_2 * W_1} * 100$$

3.1.1.2.4- Excipient 4 : Eau purifiée

3.1.1.2.4.1- Caractères

L'échantillon d'eau purifiée a été prélevé dans des flacons stériles à partir de la station de traitement des eaux du robinet, l'aspect de l'eau purifiée (couleur, odeur, goût et écoulement) a été observé et noté.

3.1.1.2.4.2- Essais

Quatre tests ont été entrepris pour vérifier que l'eau purifiée est exempt de nitrate, de substance oxydable et de métaux lourds d'une part et sa conductivité d'autre part.

➤ *Nitrates*

La recherche des nitrates nécessite la préparation de deux solutions (témoin et examiné), et ce, pour réaliser une comparaison colorimétrique.

Solution à examiner

Dans un tube à essai placé dans de l'eau glacée, 5 ml d'eau purifiée et 0.4 ml d'une solution de chlorure de potassium R à 100 g/l ont été introduits puis additionnés avec 0.1 ml de solution de diphénylamine et 5 ml d'acide sulfurique exempte d'azote, ensuite, le tube a été placé dans un bain-marie à 50°C.

Solution témoin

4.5 ml d'eau distillée ont été mélangés avec 0.5 ml de solution à 2 ppm de nitrate (Annexe 02), 0.4 ml d'une solution de chlorure de potassium à 100g/l et 0.1 ml de solution de diphénylamine.

La comparaison colorimétrique entre les deux solutions a été faite après 15 min. La solution témoin doit être d'une couleur bleu plus intense que la solution à examiner.

➤ ***Substances oxydables***

100 ml d'eau purifiée ont été mélangés avec 10 ml d'acide sulfurique dilué (0.01M) et 0.1 ml de permanganate de potassium (0.02 M). Le mélange obtenu a été chauffé à ébullition pendant 5 min. La solution reste légèrement rose ce qui confirme l'absence des substances oxydables.

➤ ***Conductivité***

La conductivité d'eau purifiée a été mesurée par un conductimètre (JENWAY) afin de contrôler l'impureté ionique. La conductivité de l'eau purifiée doit être $\leq 4.3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ à 20°C.

➤ ***Les métaux lourds***

Le contrôle de la présence des métaux lourds dans l'eau purifiée nécessite la préparation des trois solutions (Annexe 01).

2 ml du tampon (pH 3.5) et 1.2 ml de réactif au thioacétamide ont été ajoutés à 12ml de chaque solution. Après 2 min la couleur de la solution à examiner doit être marron et moins intense que le blanc et le témoin.

3.1.2- Contrôle physico-chimique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg (produit fini)

3.1.2.1- Caractères

Trois boîtes de FLUVASTATINE LDM 80 mg ont été utilisées comme échantillon pour déterminer l'aspect du produit fini.

3.1.2.2- Uniformité de masse

L'essai d'uniformité de masse des comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg permet d'assurer qu'au cours de la fabrication, la répartition du mélange initial de poudre, en unités de prises (chaque Cp), est suffisamment précise et uniforme pour garantir une même masse et donc une même teneur en principe actif (uni dose), et ce, pour l'ensemble des comprimés du même lot. Pour ce faire, 20 comprimés ont été pesés séparément, ensuite la masse moyenne a été calculée puis comparée à la norme de la pharmacopée européenne qui doit être entre 323 et 357 mg.

3.1.2.3- Test de dissolution

Ce test est effectué afin de déterminer la concentration du principe actif libéré à des moments précis (lorsque le médicament à une libération prolongé), dans un milieu de dissolution qui mime le milieu aqueux de l'organisme. Pour ce faire, deux solutions ont été préparées comme suit :

➤ Solution à examiner

Dans chaque récipient un comprimé de FLUVASTATINE LDM 80 mg a été immergé dans le milieu de dissolution contenu dans le dissolu test (figure 11), ensuite un volume de 10 ml de chaque panier a été prélevé après 30 minutes, 2 heures, 4 heures et 8 heures puis filtrés à travers une membrane à porosité de 0.45 µm.

➤ Solution standard

42.13 mg de Fluvastatine standard ont été pesés puis dilués avec l'eau purifiée dans une fiole jaugée de 500 ml.



Figure 11 Dissolu test

Les conditions opératoires du dissolu test sont présentées dans le tableau 7

Tableau 7 Conditions opératoires du dissolu test

Appareil	Composés de six Paniers
Milieu de dissolution	900 ml / Eau purifiée pour chaque panier
Vitesse de rotation	50 ± 2 tpm
Température de l'essai	37°C ± 0.5°C
Temps de la dissolution	30 min, 2 heures, 4 heures et 8 heures.

La détermination du pourcentage du principe actif libéré dans chaque temps a été réalisée par la Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance HPLC (Waters Alliance 2695), couplée avec la spectrophotométrie UV/visible (Waters 2489). Des viales ont été remplies avec les solutions préparés et filtrés précédemment, puis placée dans le carrousel d'HPLC, Les paramètres de la colonne utilisée pour HPLC sont illustrés dans le tableau 8

Tableau 8 Conditions Chromatographiques pour dissolution

Colonne	Water Delta-Pack C18 (150 x 3.9 mm), 5 µm
Phase mobile	Acétonurie + Tampon Sodium Phosphate (45 /55 v/v)
Débit	2 ml/min
Longueur d'onde	305 nm
Volume d'injection	20 µl
Température	Ambiante
Injection du standard	5 fois
Injection du blanc (l'eau purifiée des récipients)	1 fois
Injection des échantillons (Lot 5154 contenant 3 boîtes)	72 injections

Le pourcentage de la dissolution (D %) du principe actif libéré a été déterminé selon les formules suivantes :

- $D\%(30 \text{ min}) = \frac{Ae}{As} \cdot Cs \cdot 900 \cdot \frac{100}{80} \cdot X \frac{TS}{100} \cdot X \frac{411.5}{433.5}$ (dont, la norme doit être $\leq 15\%$)
- $D\%(2H) = \frac{Ae}{As} \cdot Cs \cdot 890 \cdot \frac{100}{80} \cdot X \frac{TS}{100} \cdot X \frac{411.5}{433.5} + \frac{D(0.5 H) \times 10}{900}$ (dont, la norme doit être entre [10-45%])
- $D\%(4H) = \frac{Ae}{As} \cdot Cs \cdot 880 \cdot \frac{100}{80} \cdot X \frac{TS}{100} \cdot X \frac{411.5}{433.5} + \frac{D(0.5 h) \times 10}{900} + \frac{D(2 H) \times 10}{890}$ (dont, la norme doit être entre [40-70%]).
- $D\%(8H) = \frac{Ae}{As} \cdot Cs \cdot 870 \cdot \frac{100}{80} \cdot X \frac{TS}{100} \cdot X \frac{411.5}{433.5} + \frac{D(0.5 h) \times 10}{900} + \frac{D(2 h) \times 10}{890} + \frac{D(4 H) \times 10}{880}$ (dont, la norme doit être $\geq 75\%$)

Dans laquelle :

Ae : Aire de Fluvastatine sodique dans la solution essai ;

As : Aire de Fluvastatine sodique dans la solution standard ;

Cs : Concentration en mg/ml de Fluvastatine sodique dans la solution standard;

Ts : Titre du standard;

411.5 : Masse molaire de Fluvastatine;

433.5 : Masse molaire de Fluvastatine sodique.

3.1.2.4- Dosage

En dehors des substances apparentées du principe actif, d'autres impuretés dans les comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg ont été dosées par l'HPLC.

Les viales remplies avec les différentes solutions (Annexe 01), ont été placées dans le carrousel d'HPLC. Les paramètres de la colonne et le système de gradient utilisés pour HPLC sont illustrés dans tableaux 9 et 10, respectivement.

Tableau 9 Conditions chromatographiques pour dosage

Phase mobile A	87.5% Tampon pH 7.2 + 12.5% Mélange Méthanol/Acétonitrile.
Phase mobile B	87.5% Mélange Méthanol/Acétonitrile + 12.5% Tampon pH 7.2.
Diluant	54% Tampon pH 7.2 + 46% Mélange Méthanol/Acétonitrile.
Colonne	C18 (50 x 4.6) mm/5µm
Débit	2.0 ml / min.
Longueur d'onde	305 nm et 365 nm.
Volume d'injection	25 µl

Tableau 10 Système de gradients

Temps (min)	Phase mobile A (%)	Phase mobile B (%)	Elution
0-6	54	46	Isocratique
6-17	54 vers 17	46 vers 83	Gradient linéaire
17-20	17	83	Isocratique
20-20.1	17 vers 54	93 vers 46	Gradient linéaire
20.1 – 26.1	54	46	Equilibration

La lecture a été effectuée sur spectrophotomètre UV/visible à deux longueurs d'onde lié à un ordinateur. Le dosage a été déterminé selon la formule suivante :

$$\% = \frac{Ae}{As} \times \frac{Cs}{Ce} \times \frac{T}{100} \times \frac{100 - LOD}{100} \times \frac{100}{LC} \times PM \times \frac{411,5}{433,5}$$

Dans laquelle :

Ce : Concentration en mg / ml de Fluvastatine sodique dans la solution essai ;

LOD : Teneur en eau du standard ;

LC : Dose du médicament 80mg ;

PM : Poids moléculaire de Fluvastatine ;

Ainsi que le dosage de l'impureté 3-Hydroxy-5-Keto Fluvastatine a été déterminé selon la formule suivante :

$$3 - Hydroxy - 5 - Keto Fluvastatine = 100 \times \frac{1}{F} \times \frac{411,5}{433,5} \times \frac{Cs}{Ct} \times \frac{Ri\ 365}{Rs\ 365}$$

Dans laquelle :

F: Facteur de réponse relative ;

Ri 365 : Aire du pic du 3-Hydroxy-5-Keto Fluvastatine dans la solution essai à 365 nm ;

Rs 365 : Aire du pic de la Fluvastatine sodique dans la solution standard à 365 nm.

3.1.3-Tests au cours de fabrication (*in process*)

Le contrôle physico-chimique au cours de la production exige plusieurs tests à savoir ; test du volume apparent, test de granulométrie, test d'étanchéités, test de dureté, test de friabilité test du taux d'humidité...etc., les différents paramètres à analyser à ce niveau sont résumés dans le tableau 11.

Tableau 11 tests *In process*

Tests	But	Principe	lecture
Volume apparent	Pour déterminer l'efficacité de l'étape de granulation	100 g du principe actif ont été pesés, puis l'éprouvette graduée subit 10 ; 500 et 1250 tapes pour éliminer l'air et homogénéiser le PA	Les différences de volumes sur l'éprouvette ont été relevé après stabilité
Granulométrie	Pour déterminer le degré de finesse qui permet l'addition d'une quantité convenable de lubrifiant	100 g du principe actif ont été mises sur le haut de tamis de différents calibres allant de 0 à 630 μm puis agités par un mouvement de vibration à une vitesse de 30 tr/min pendant 10 min	les tamis ont été repesés pour déterminer la plus grande masse retenue.
Etanchéité	Pour prouver l'étanchéité du blister	3 blisters ont été mises dans un récipient d'eau et de bleu de méthylène à pression de 5 bars pendant 5 min	les blistères ont été vérifiés à l'œil nu pour vérifier leur étanchéité.
Dureté	Pour assurer que les comprimés présentent une résistance mécanique suffisante	21 Cp ont été mis dans un duremètre qui exerce une pression.	Les valeurs ont été données par duremètre (exprimées en newtons (N)) Norme [90-155N]
Friabilité	Pour vérifier la perte de masse d'un comprimé après rotation dans un tambour sous l'effet des frottements	20 comprimés ont été pesés et mis dans un friabilimètre, après 4min une 2 ^{ème} pesée a été effectuée.	Le calcul en pourcentage de la masse des comprimés est égale à la Masse initiale moins la masse après rotation sur la masse initiale.
Taux d'humidité	Pour déterminer l'humidité de la substance et de savoir si le séchage est conforme ou non	3 g de la substance ont été introduits dans l'humidimètre le taux d'humidité est mesuré à $t^{\circ}= 0$; puis à $t^{\circ}=150$ °C	Mesure de l'humidité à 150 °C

3.2- Contrôle microbiologique des substances testées

Le contrôle microbiologique des substances testées est effectué selon les méthodes mentionnées dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition. Ces méthodes consistent à la détermination des germes aérobies totaux (bactéries, moisissures et levures), la recherche d'*Escherichia coli* et la recherche de microorganismes spécifiques (*Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*).

3.2.1-Contrôle microbiologique de la matière première

3.2.1.1-Principe actif (Fluvastatine sodique)

Le contrôle microbiologique du principe actif et des excipients nécessite la préparation des échantillons suivants :

Echantillon A

10 g de Fluvastatine sodique ont été dissous dans 90 ml de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium, pH 7.0 (TSE) (Annexe 03).

Echantillon B

10 g de Fluvastatine sodique ont été dissous dans 90 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (TSB) (Annexe 03), puis incubés à 33 °C pendant 24 h.

3.2.1.1.1-Dénombrement des germes aérobies mésophiles viables totaux

1 ml de l'échantillon A a été transféré sur milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (TSA) (Annexe 03), puis incubé à 33 °C pendant cinq jours (une lecture intermédiaire a été faite le 3^{ème} jour).

3.2.1.1.2-Dénombrement des levures et moisissures

1 ml de l'échantillon A, a été transféré sur milieu Sabouraud Dextrosé-Agar (SDA) (Annexe 03), et incubé à 25 °C pendant 7 jours (une lecture intermédiaire a été faite le 5^{ème} jour).

3.2.1.1.3-Recherche d'*Escherichia coli*

1 ml de l'échantillon A, a été transféré dans 100 ml du milieu TSB et incubé à 35°C pendant 24 h, puis 1 ml du milieu a été transféré dans 100 ml du milieu liquide de Mac ConKey

(MCB) (Annexe 03), et incubé à 44 °C pendant 48 h. Un volume de 0.1 ml été ensemencé sur des boites de pétri contenant préalablement, le milieu gélosé de MacConKey (MCA) (Annexe 03). L'incubation a été faite à 33°C pendant 72 h.

3.2.1.1.4-Recherche de *Staphylococcus aureus*

10 ml de l'échantillon A ont été transférés dans 100 ml du milieu TSB, l'incubation a été réalisée à 35°C pendant 24 h. Après cette période, 0.1 ml a été ensemencé sur des boites de pétri contenant le milieu gélosé Chapman. L'incubation a été faite à 33°C pendant 72 h.

3.2.1.1.5-Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

10 ml de l'échantillon A ont été transférés dans 100 ml du milieu TSB et incubés à 33°C pendant 24 h, après ce temps, 0.1ml a été ensemencé sur des boites de pétri contenant le milieu gélosé Cetrimide (Annexe 03). L'incubation a été réalisée à 33°C pendant 72 h.

3.2.1.1.6- Recherche de *Salmonella*

0.1 ml de l'échantillon B a été transféré dans 10 ml du milieu liquide d'enrichissement Rappaport-Vassiliadis (RVB) (Annexe 03), et incubés à 33°C pendant 24 h, après ce temps un repiquage a été réalisé sur une boite contenant le Milieu Gélosé Xylose-lysine-désoxycholate (XLD) (Annexe 3) et incubés à 33°C pendant 48 h.

Pour chaque test un essai témoin négatif a été réalisé.

3.2.1.2- Excipients

3.2.1.2.1 : Excipient 1 : *Cellulose microcristalline*

Les mêmes procédés ont été effectués pour les testes de contrôle microbiologique du principe actif. La lecture a été réalisée selon les critères d'acceptation de la contamination microbienne exigés par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

3.2.1.2.2- Excipient 2 : *Stéarate de magnésium*

Les mêmes procédés ont été effectués pour les testes de contrôle microbiologique du principe actif (Fluvastatine sodique), en revanche, la recherche de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* n'a pas été exigée par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

3.2.1.2.3- Excipient 3 : Eau purifiée

L'eau purifiée pénètre dans la fabrication des médicaments, dans la préparation des milieux de culture aussi dans le nettoyage du matériel de production et de laboratoire c'est pour cette raison que son contrôle microbiologique est très important. Des prélèvements d'eau purifiée ont été réalisés chaque jour au niveau de l'unité de traitement de l'eau du robinet. La méthode de contrôle a été effectuée par filtration à travers une membrane de nitrate de cellulose (0.45µm), liée à une rampe de filtration (figure 12).

Les manipulations ont été réalisées dans des conditions aseptiques sous hotte à flux laminaire équipée d'un bec bunsen. La rampe a été stérilisé par flambage, puis le filtre a été retiré délicatement de son emballage avec la pince et a été placé dans la rampe. Ensuite 10 ml de l'échantillon d'eau purifiée a été déposé sur le filtre. L'eau est filtrée à l'aide d'une pompe aspirante pendant 5 min puis retirée avec la pince et déposée sur deux boîtes de pétri contenant le milieu R2A (Annexe 03). L'incubation a été faite à 33°C pendant 5 jours.

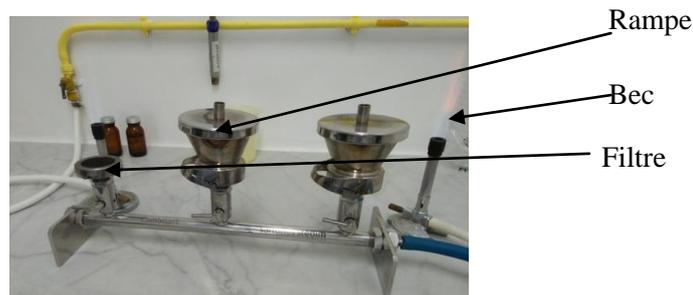


Figure 12 Rampe de filtration (Sartorius Combisart)

La lecture est faite à l'aide du compteur de colonies et les résultats sont exprimés en UFC/10ml.

3.2.2- Contrôle microbiologique de FLUVASTATINE LDM 80mg (produit fini)

Pour chaque lots de FLUVASTATINE LDM 80 mg, 5 boîtes ont été prélevées au hasard et à différents niveaux de production. Pour réaliser ce test, 30 comprimés ont été déblistés (équivalent à 10 g de FLUVASTATINE LDM 80 mg), ensuite, les comprimés ont été broyés aseptiquement dans un mortier stérile, la poudre obtenue a été dissoute dans 90 ml de la

solution tampon peptonée au chlorure de sodium stérile(TSE) (pH= 7.0) puis homogénéisée à l'aide d'un vortex.

Le dénombrement des germes aérobies viables totaux, des levures et des moisissures et la recherche d'*Escherichia coli* ont été effectués selon le même procédé réalisé dans le contrôle microbiologique de Fluvastatine sodique (principe actif).

Résultats et discussion

4. Résultats et discussion

Le présent travail porte sur le contrôle physico-chimique et microbiologique de la FLUVASTATINE LDM 80mg afin de déterminer sa conformité par rapport aux normes de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

4.1 - Contrôle physico-chimique des substances testées

Tous les résultats obtenus ont été comparés avec la norme pharmacopée européenne 8^{ème} édition, dont les textes (les « monographies ») définissent des exigences de qualités générale ou spécifique auxquelles doivent satisfaire les substances pharmaceutiques qui composent les médicaments.

4.1.1- Contrôle physicochimique de la matière première

4.1.1.1-Principe actif (Fluvastatine sodique)

4.1.1.1.1- Caractères

Les différents caractères du principe actif (Fluvastatine sodique) des lots testés (0610217, 0620217, et 0630217) (tableau 12) répondent aux spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition, ce qui confirme que le principe actif testé est conforme concernant son aspect et sa solubilité.

Tableau 12 Caractères du principe actif (Fluvastatine sodique)

Lots	Aspect	Solubilité	Conformité
0610217, 0620217 et 0630217	poudre jaune pale amorphe, très hygroscopique	soluble dans l'eau, facilement soluble dans le méthanol et pratiquement insoluble dans l'acétone	Conforme aux spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8 ^{ème} édition

4.1.1.1.2- Identification

Les spectres du Fluvastatine sodique identifiés par infrarouge pour les différents lots (de chaque fut) (figure 13-B-C-D) ont été comparés avec le spectre du Standard de Contrôle et de Référence SCR (figure 13-A). Les résultats obtenus montrent que les spectres (B-C-D) sont superposables au spectre du standard (A), ce qui prouve que le principe actif Fluvastatine sodique est pur et conforme aux normes.

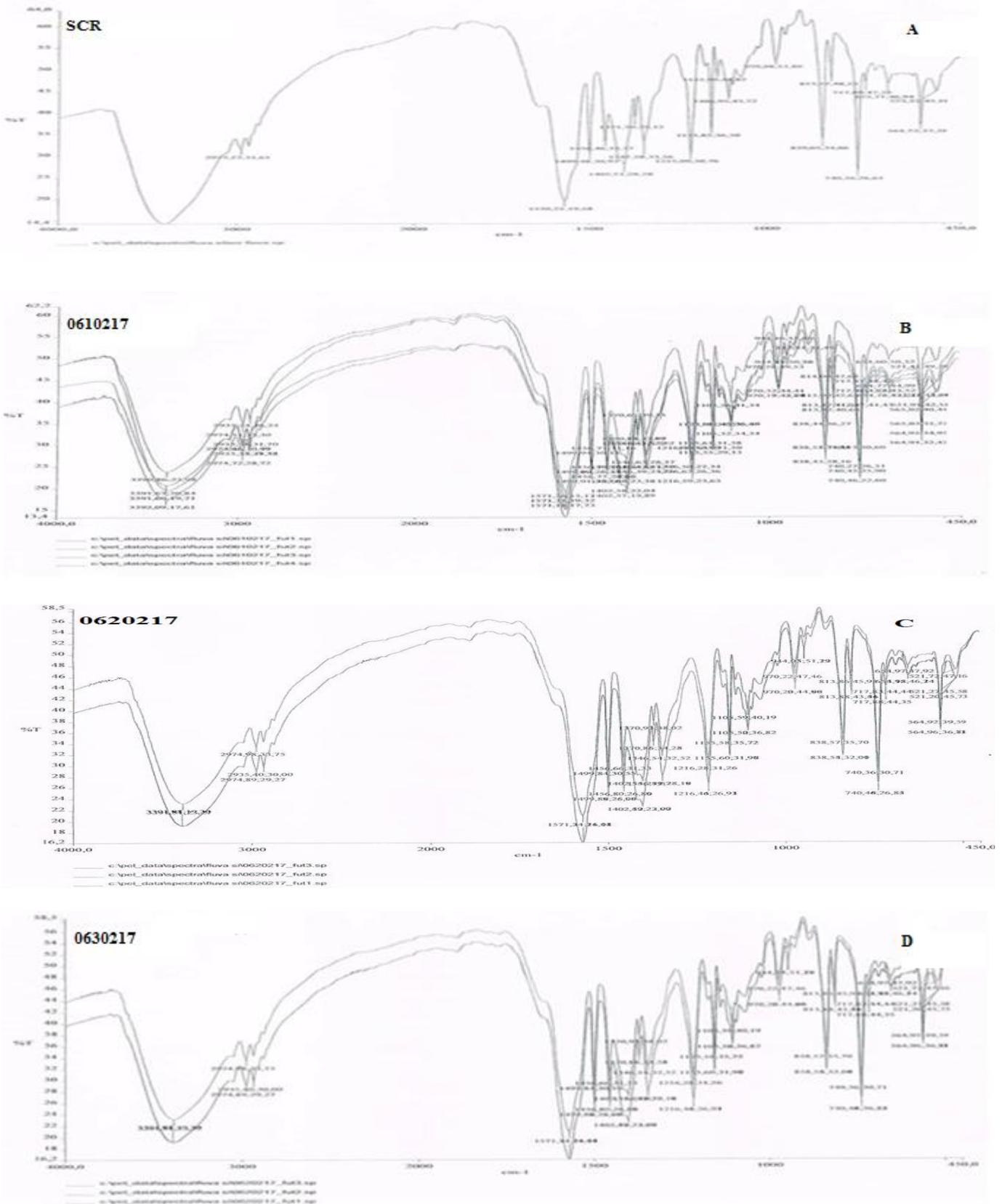


Figure 13 Spectres infra rouge de SCR Fluvastatine sodique (A), et des différents lots : 0610217(B), 0620217(C) et 0630217 (D)

L'analyse des résultats obtenus montrent que les liaisons hydrogènes établies entre les molécules qui affaiblissent les liaisons covalentes O-H et conduisent à l'abaissement du nombre d'ondes σ_{O-H} et à un élargissement de la bande. La liaison O-H est associée de 3200 cm^{-1} à 3400 cm^{-1} (figure 14). Les groupements de la liaison C=O se manifeste par une bande d'absorption $1640\text{-}1670\text{ cm}^{-1}$.

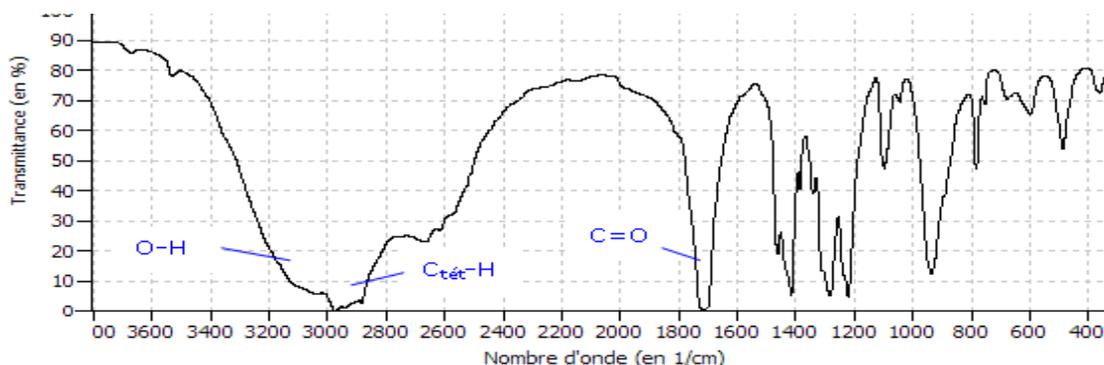


Figure 14 Spectre infra rouge du PA

A partir de ces résultats, la formule brute du principe actif (fluvastatine sodique) a été déduite (figure 15).

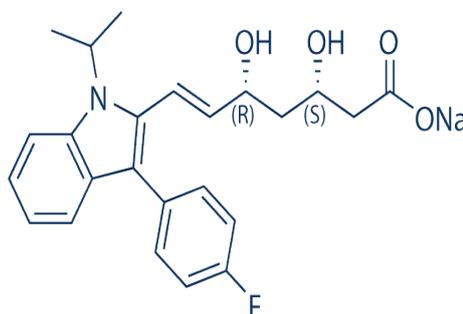


Figure15 formule brute de Fluvastatine

4.1.1.1.3- Essais

➤ pH

Le pH du mélange des différents lots testés: 0610217, 0620217 et 0630217, se trouve dans l'intervalle exigé par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition [8,0 – 10,00] (tableau 13), ce qui donne un pH conforme.

Tableau 13 pH du Fluvastatine sodique

Lots	pH	Norme	Résultat
0610217	8,26	[8.0 – 10.00]	conforme
0620217	8,14		
0630217	8,51		

➤ *Recherche des substances apparentées*

Les chromatogrammes obtenus du standard de la Fluvastatine sodique pour les deux phases mobiles A et B sont présentés sur la figure 16.

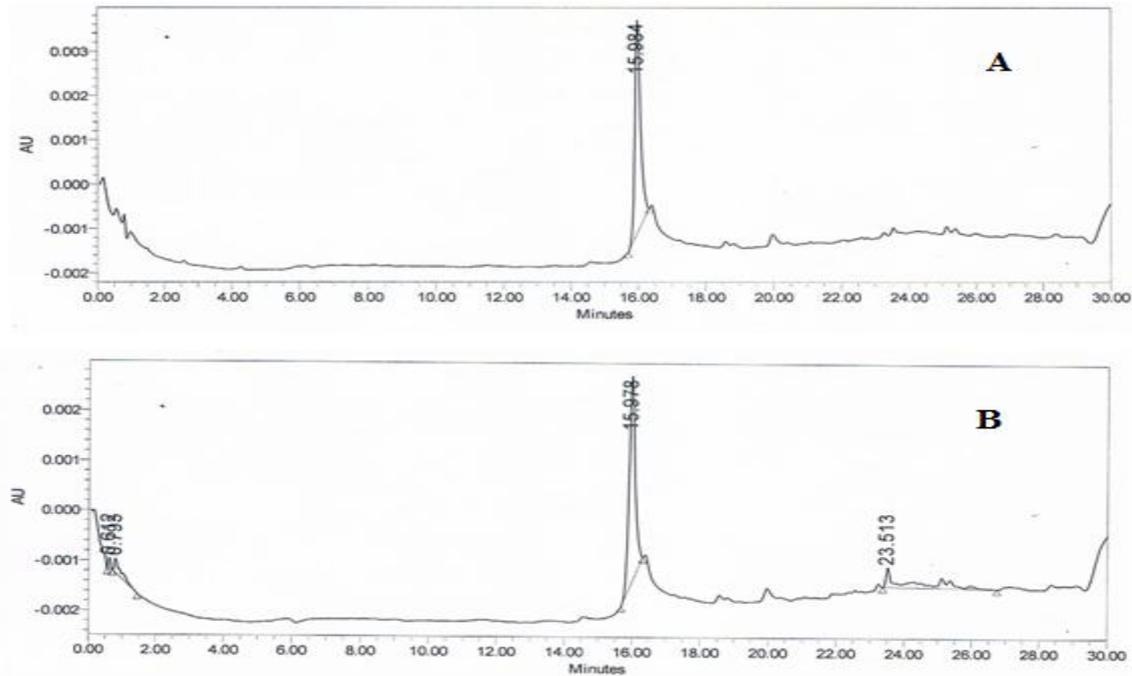


Figure 16 Chromatogrammes du standard de la Fluvastatine sodique : **A**, dans la phase mobile A ; **B**, dans la phase mobile B détectés à 305 nm.

Ces chromatogrammes montrent que la moyenne de temps de rétention du pic principal du standard de la Fluvastatine sodique (Figure16) obtenu dans les deux phases est de 15.754. Alors que Les chromatogrammes obtenus des différents lots de la Fluvastatine sodique à différentes d’ondes montrent l’apparence des autres pic relatifs aux impuretés A et B (figure 17) et le pic relatif à l’impureté D (figure18).

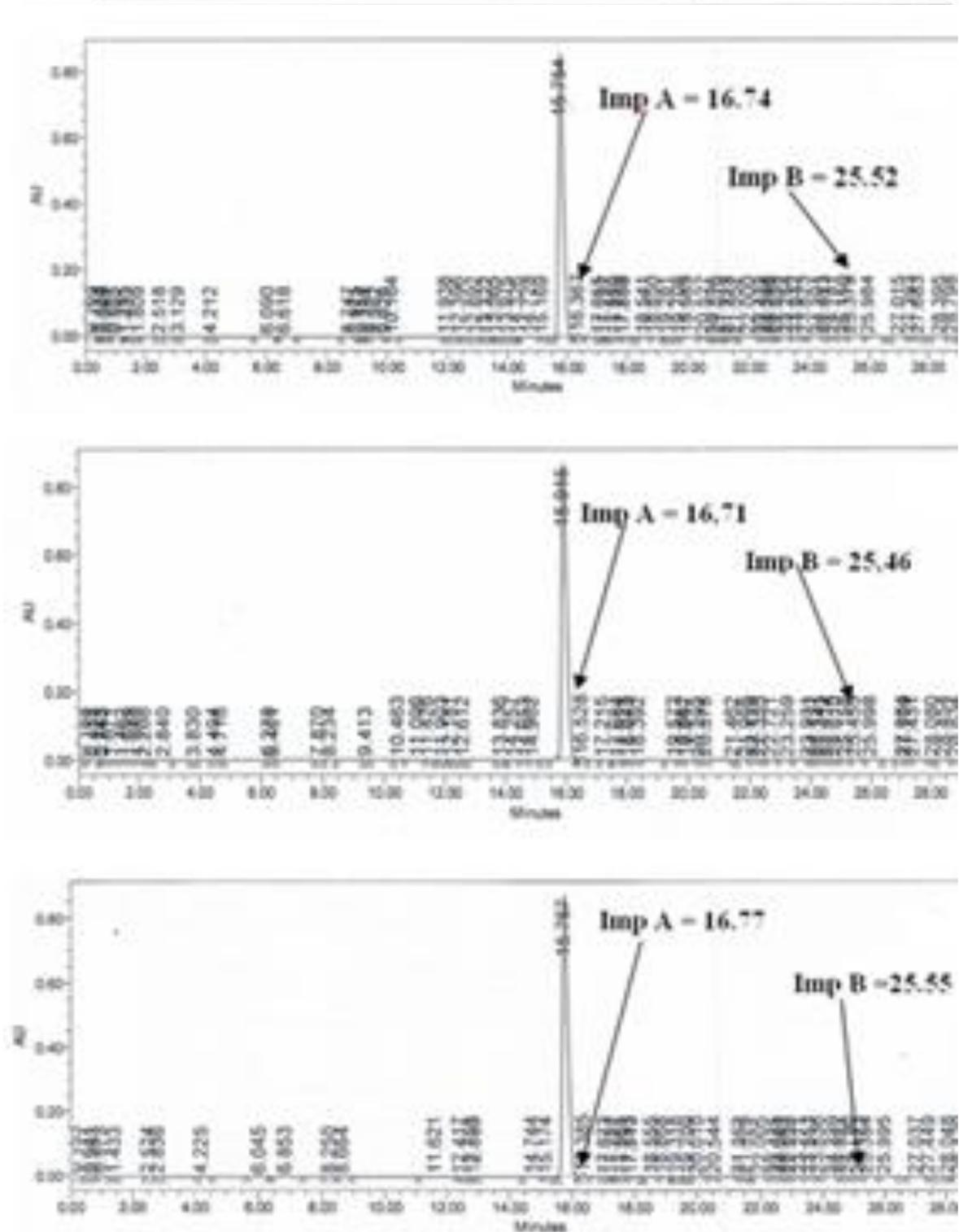


Figure 17 Chromatogrammes de la Fluvastatine sodique des trois lots (305 nm)

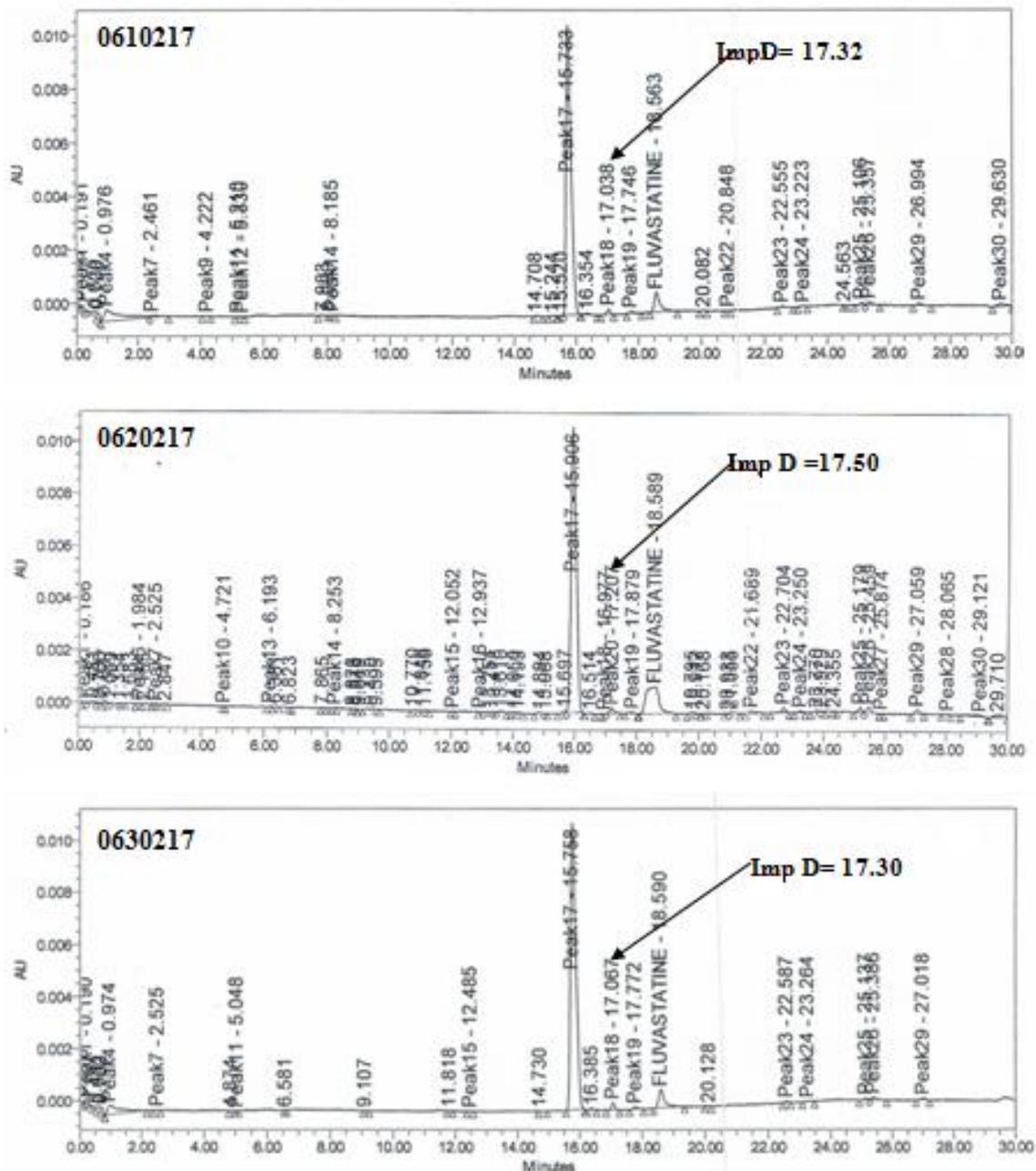


Figure 18 Chromatogrammes relatifs à l'impureté D de la Fluvastatine sodique des trois lots (365 nm)

Il est important de noter que les limites d'exclusion des pics (pourcentage de la surface $\leq 0,05$) ainsi que les pics correspondants au blanc (phase mobile A et B), à 305 nm ont été éliminés selon les spécifications mentionnées dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition. Le temps de rétention relatif pour chaque impureté (A, B, et D) a été déterminé (Annexe 01) et les résultats de l'identification des substances apparentées sont résumés dans le tableau 13.

Tableau 14 Identification des substances apparentées

Lots	Aire de la solution témoin(a)	Aire de l'imp. A	Aire de l'imp. B	Aire de l'imp. D	Conformité
0610217	101437	33724 < 405748(norme)	3875 < 101437(norme)	535 < 76077,5 (norme)	Conforme
0620217	97214	33865 < 388856(norme)	4384 < 97214(norme)	1917 < 72910 (norme)	
0630217	95471	36248 < 381884(norme)	3217 < 95471(norme)	2258 < 71603 (norme)	
Normes	/	imp. A < 4 x Solution témoin (a)	imp. B < Solution témoin (a)	imp. D < 0,75 x Solution témoin (a)	

Les résultats obtenus confirment que les aires des différentes impuretés A, B et D dans le principe actif pour les trois lots testés sont conformes à la norme de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

➤ **La teneur en eau**

Les résultats obtenus de la teneur en eau des différents lots étudiés appartiennent à l'intervalle de confiance ($\leq 12\%$), donc le test de la teneur en eau des différents lots est conforme (tableau 14).

Tableau 15 Teneur en eau de la fluvastatine sodique

Lots	Creuset avec matière	Creuset vide	Teneur %	Normes	Conformité
0610217	208,85	204,13	2,77	$\leq 12\%$.	conforme
0620217	203,43	200,18	3,34		
0630217	200,55	199,48	3,64		

➤ **Métaux lourds**

Le test des métaux lourds est basé sur une interprétation colorimétrique, la solution à examiner est moins colorée (bleu clair) que la solution témoin (bleu foncé) (figure 19). L'interprétation de ces résultats montre que le taux de métaux lourds de la Fluvastatine sodique (principe actif) est ≤ 10 ppm, donc le résultat est conforme pour les lots testés.

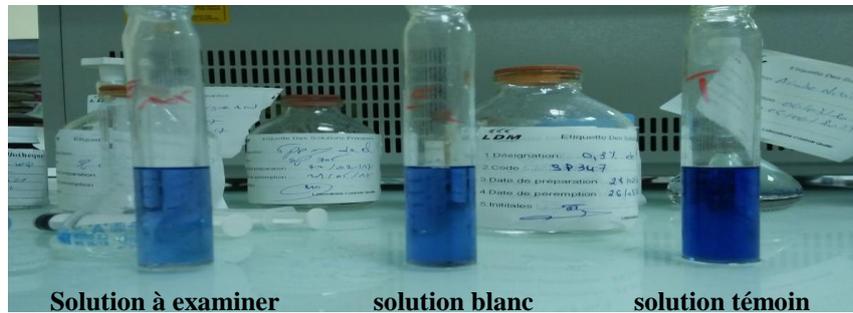


Figure 19 Recherche des métaux lourds de la fluvastatine sodique

4.1.1.1.4- Dosage

Les résultats obtenus de la titration de la Fluvastatine sodique avec l'acide perchloridrique sont présentés sur le tableau (Annexe 01), cependant, les courbes présentées sur la figure 20 permettant de déterminer le point d'équivalence qui correspond au volume d'acide perchloridrique nécessaire pour atteindre l'équilibre (V_e).

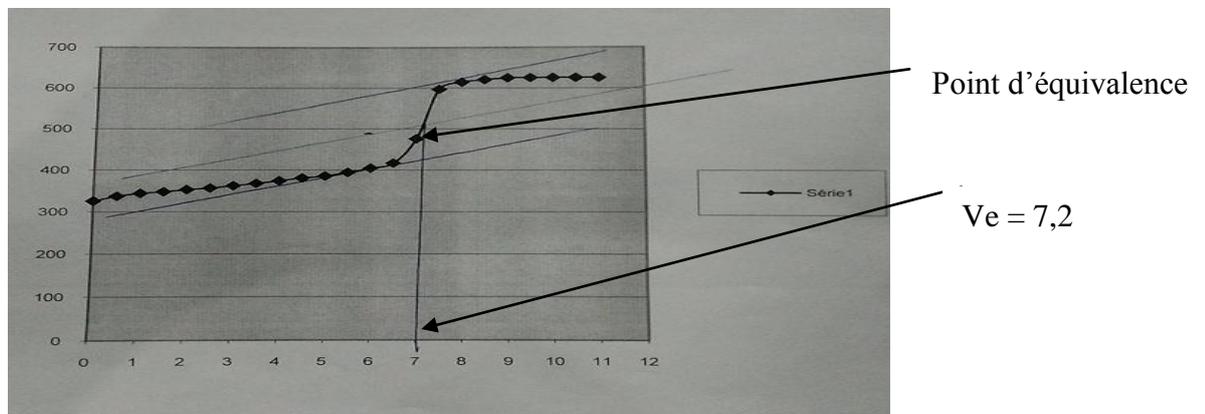


Figure 20 Courbe de dosage de la fluvastatine sodique par titration

Le résultat du dosage du principe actif est illustré dans le tableau 15 :

Tableau 16 Dosage de la Fluvastatine sodique

lot	Essai 1		Essai 2		Moyenne
	Volume	dosage	Volume	dosage	
0610217	7.20	100.71%	7.20	101.05%	100.88%
0620217	7.20	101.15%	7.10	100.29%	100.72%
0630217	7.20	101.50%	7.10	100.67%	101.08%

Selon les spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition, les résultats obtenus pour la FLUVASTATINE sodique, appartiennent à l'intervalle de confiance [98.5-101.5], ce qui veut dire que le produit est conforme.

Après avoir terminé tous les tests concernant les caractères, l'identification, le dosage et les essais du principe actif (FLUVASTATINE sodique), un certificat de conformité des lots 0610217, 0620217, 0630217 a été délivré par l'opérateur ensuite vérifié et validé par la hiérarchie afin de libérer la substance pour la production.

4.1.1.2- Excipients

4.1.1.2.1-Excipient 1 : Cellulose microcristalline

4.1.1.2.1.1- Caractère et identification

Les résultats de l'aspect, de la solubilité et de l'identification de la cellulose microcristalline du lot 0401016 (tableau 16), répondent aux spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

Tableau 17 Caractères et identification de la cellulose microcristalline

Lot	Aspect	Solubilité	Identification	Conformité
0401016	Poudre blanche et fine	La poudre est pratiquement insoluble dans tous les solvants à savoir l'eau ; l'acétone, l'éthanol, le toluène, l'acide, hydroxyde de sodium et dans la solution ammoniacale de tétrammine cuivre	Le mélange obtenu se colore en bleu-violet.	Conforme

4.1.1.2.1.2- Essais

Les résultats obtenus des différents essais effectués sur la cellulose microcristalline sont illustrés dans le tableau 18.

Tableau 18 Essais sur la cellulose microcristalline

Essais	Résultats	Normes	Conformité
pH	6.22	5.0 – 7.5	conforme
Conductivité	65.29 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$	$\leq 75 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$	
Les substances solubles dans l'eau	0.14 %	0.25 %.	
Métaux lourds	La couleur brune de la solution à examiner est moins intense que celle du témoin.	Une couleur brune moins intense que celle du témoin	
Perte à la dessiccation	3.88%	$\leq 7.0 \%$	
Cendre sulfurique	0.0%	$\leq 0.1 \%$	

Les résultats des différents essais montrent que le lot 0401016 est conforme.

Après avoir terminé tous les tests concernant les caractères, l'identification et les essais, un certificat de conformité de l'excipient cellulose microcristalline du lot 0401016 a été délivré par l'opérateur.

4.1.1.2.2- Excipient 2 : Stéarate de magnésium

4.1.1.2.2.1- Caractères

Les résultats de l'aspect de l'échantillon de stéarate ainsi que sa solubilité sont résumés dans le tableau 19.

Tableau 19 Caractères du stéarate de magnésium

Lot	Aspect	Solubilité	Conformité
0530117	poudre blanche, très fine et légèrement onctueuse	la substance est pratiquement insoluble dans l'eau et dans l'éthanol anhydre	Conforme

Les résultats concernant les caractères du stéarate de magnésium du lot 0401016 sont conformes car ils répondent aux spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

4.1.1.2.2- Identification

Les résultats des trois tests d'identification (A, B et C) du stéarate de magnésium sont repris dans le tableau 20. L'interprétation de ces résultats témoigne de la conformité du lot 0530117.

Tableau 20 Différents tests d'identification du stéarate de magnésium

lot 0530117	Résultats	Normes	Conformité
A- Point de solidification	un précipite cristallin blanc s'est formé à une température à 75 °C	La solidification s'est faite à une $t^{\circ} \geq 53$ °C	Conforme
B- Indice d'acide	200.71	[195 - 210]	
C- Précipitation	Un précipité cristallin blanc s'est formé	Un précipité cristallin blanc doit se former	

4.1.1.2.2.3- Essais

Le test d'alcalinité appliqué sur l'excipient (stéarate de magnésium), présent un virage de couleur vers le rose. Ce résultat indique que le stéarate de magnésium est considéré comme un milieu acide. Concernant les autres essais (Chlorures et sulfates), l'opalescence de la solution S est moins prononcée que celle du témoin. Alors que le dernier essai concernant la perte à la dessiccation (LOD=2,50 %) est inférieur ou égal à la norme (6,0%). Donc les différents essais du stéarate de magnésium sont considérés conformes. Ces résultats sont récapitulés dans le tableau 21.

Tableau 21 Essais sur le stéarate de magnésium

Tests	Résultats	Normes	Conformité
Acidité ou alcalinité	La couleur jaune de la solution vire en bleu : le stéarate de magnésium est un milieu acide	Couleur bleu : la substance testée est un milieu acide	Conforme
Chlorures	L'opalescence de la solution S est moins prononcée que celle du témoin	L'opalescence n'est pas prononcée que celle du témoin	
Sulfates	L'opalescence de la solution S est moins prononcée que celle du témoin	L'opalescence n'est pas prononcée que celle du témoin	
Perte à la dessiccation (LOD%)	2.50 %	≤ 6.0 %	

4.1.1.2.2.4- Dosage

Le résultat obtenu concernant le calcul du dosage du stéarate de magnésium (Annexe 01) est de 4.84 %, cette valeur entre dans l'intervalle de spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition [4-5 %], donc le lot 0530117 du stéarate de magnésium est considéré conforme.

Après avoir terminé tous les tests concernant le caractère, l'identification et l'essai, la conformité de l'excipient stéarate de magnésium du lot 0530117 a été validé.

4.1.1.2.3- Excipient 3 : Opadry

4.1.1.2.3.1- Caractère

L'étude du caractère basée sur l'observation à l'œil nu montre que l'opadry présente une poudre homogène rose, donc le lot 0180415 est conforme.

4.1.1.2.3.2- Identification

Le spectre infra rouge du standard opadry (figure 21-B), présente une adéquation du profil de l'échantillon du lot 0180415 (figure 21-A). Ces résultats confirment la conformité de l'excipient testé.

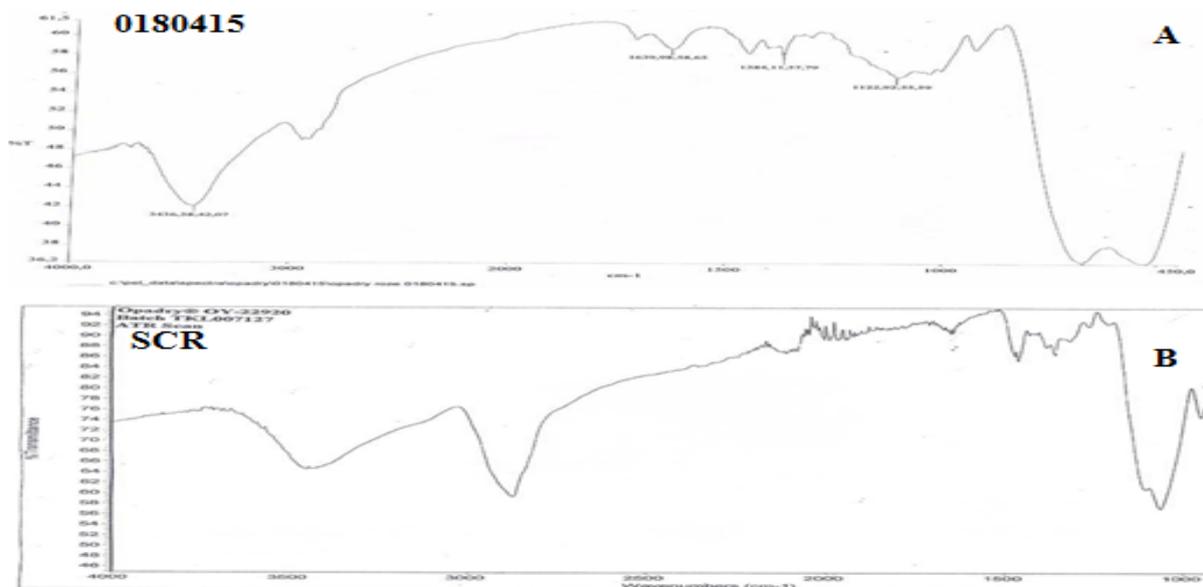


Figure 21 Spectres infra rouge de l'opadry : A, Essai, B, Standard

4.1.1.2.3.3- Essais

➤ Dispersion

Toute la solution a traversé le tamis et aucun élément n'a été retenu puisque les normes stipulent que le tamis ne doit pas contenir des éléments non dispersés, donc le lot 0180415 est considéré conforme.

➤ Cendres totales

Le résultat du pourcentage des cendres totales de l'opadry est de **28.30 %**, cette valeur entre dans l'intervalle de spécification [24-34 %], ce qui confirme que le lot 0180415 est conforme.

4.1.1.2.4- Excipient 4 : Eau purifiée

4.1.1.2.4.1- Caractère

L'échantillon d'eau purifiée collecté au niveau de la station de traitement des eaux du robinet est limpide et incolore, ce résultat est conforme aux spécifications de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

4.1.1.2.4.2- Essais

Les différents essais appliqués sur l'eau purifiée sont récapitulés dans le tableau 22. L'interprétation des résultats obtenus montre que l'eau analysée est considéré comme conforme.

Tableau 22 les différents essais appliqués sur l'eau purifiée

Essais	Résultats	Conformité
Nitrates	Après 15 min, une coloration bleue apparait, et moins intense que celle du témoin préparé, ceci indique que la quantité des nitrates est ≤ 0.2 ppm (norme)	Conforme
Substances oxydables	Après chauffage la solution est restée légèrement rose	
Conductivité	la conductivité d'eau purifiée à 20 °C est égale 4.3 est $\leq 4.3 \mu\text{S} / \text{cm}$ à 20°C) (Norme)	
Métaux lourds	L'interprétation des résultats des métaux lourds a été effectuée visuellement, la couleur de la solution à examiner était moins intense que celle du témoin donc n le résultat est dans les normes ≤ 0.1 ppm	

4.1.2-Contrôle physico-chimique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg (produit fini)

4.1.2.1- Caractère

L'observation visuelle des comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg a montré que ce sont des comprimés pelliculés, rond, biconvexe de couleur jaune, ces résultats répondent aux spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition, ce qui confirme que la FLUVASTATINE LDM 80 mg testé est conforme.

4.1.2.2- Uniformité de masse

La masse de 20 comprimés pesés séparément est présentée dans le tableau 23.

Tableau 23 Pesée des comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg

Nombre de comprimés	La masse (mg)
1	342.9
2	343.1
3	346 .0
4	343.9
5	349.8
6	343.9
7	349.3
8	331.7
9	338.6
10	355.1
11	337.9
12	347.5
13	341.1
14	346.4
15	342.7
16	348.4
17	330.8
18	349.5
19	339.4
20	338.2
La somme	686.6
Moyenne	343.28
Norme	323 -357

Les comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg ont presque une même masse et donc une même teneur en Principe Actif pour l'ensemble des comprimés des trois lots (5174. 5175 et 6079) testés, donc les résultats sont dans les normes.

4.1.2.3- Identification

➤ La dissolution

La figure 22 présente le chromatogramme de la dissolution de FLUVASTATINE LDM 80 mg standard, et le tableau 24 illustre la moyenne des temps de rétention et les aires des 5 injections de ce dernier.

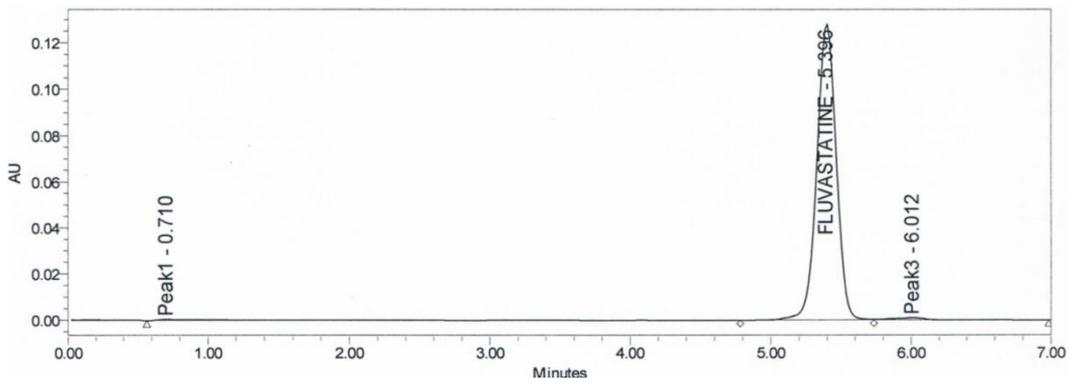


Figure 22 Chromatogramme de dissolution de Fluvastatine standard (305 nm)

Tableau 24 Temps de rétention et aires de Fluvastatine standard

	Fluvastatine	TR	Surface
	Inj 1	5.396	1234004
	Inj 2	5.390	1221574
	Inj 3	5.398	1222040
	Inj 4	5.398	1233346
	Inj 5	5.390	1228568
Moyenne	/	5.394	1227906

Après 30 min, le chromatogramme du dissolution-FLUVASTTINE LDM 80 mg (figure 23) a été comparé au chromatogramme du standard (figure 22), le temps de rétention de FLUVASTATINE LDM 80 mg est de 5.389.

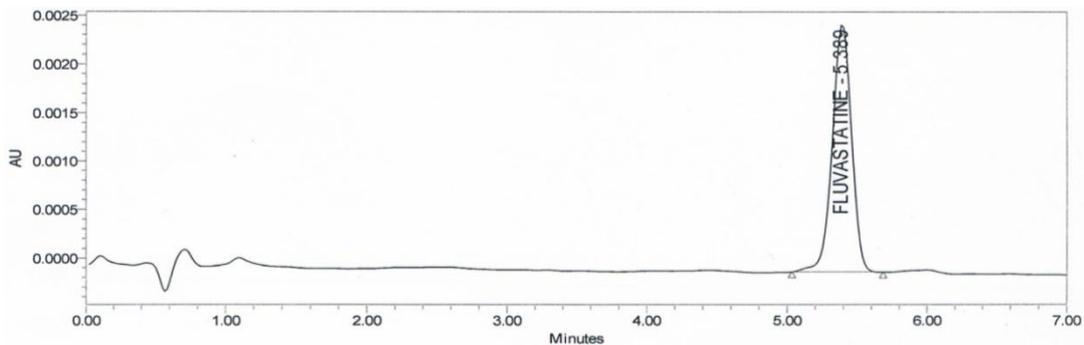


Figure 23 Chromatogramme de dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 30 min (305 nm)

La moyenne du temps de rétention et les surfaces des six comprimés (tableau 25) ont été utilisées pour le dosage du pourcentage de Fluvastatine dissoute.

Tableau 25 Dissolution du FLUVASTATINE LDM 80 mg après 30 min

	Fluvastatine (30min)	TR	Surface
	Cp 1	5.389	24378
	Cp 2	5.386	48679
	Cp 3	5.392	90835
	Cp 4	5.393	74355
	Cp 5	5.394	82194
	Cp 6	5.386	87842
Moyenne	/	5.389	81656

Le pourcentage de Fluvastatine sodique dissoute dans les 30 min est de 1.80 %, cette valeur est inférieure ou égale (\leq) 15 % ce qui indique la conformité du produit testé.

Après deux heures, l'interprétation du chromatogramme dissolution-FLUVASTATINE LDM 80 mg (figure 24) a été comparée au chromatogramme du standard (figure 22), le pic principal Fluvastatine est de 5.402.

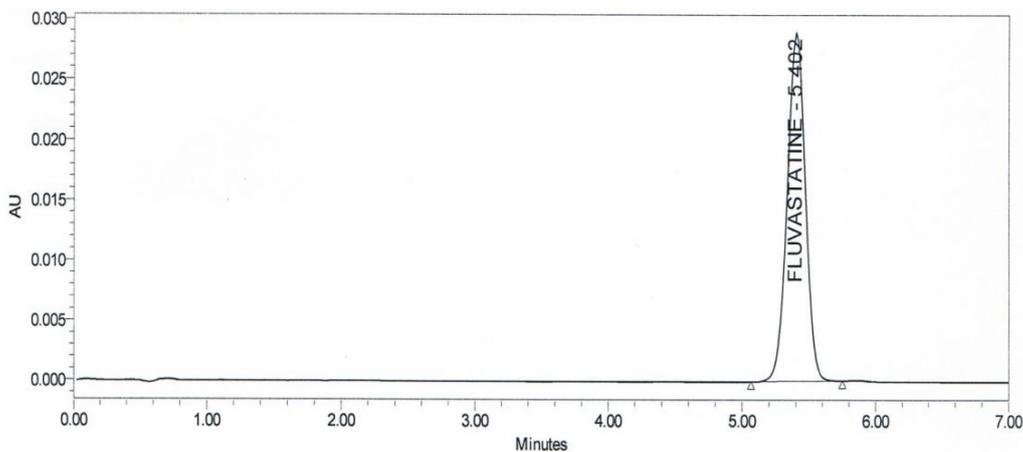


Figure 24 Chromatogramme de dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 2h (305 nm)

La moyenne du temps de rétention et les surfaces des six comprimés (tableau 26) ont été utilisées pour le dosage du pourcentage de Fluvastatine dissoute du deuxième prélèvement.

Tableau 26 Dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 2h

	Fluvastatine (2h)	TR	Surface
	Cp 1	5.402	272146
	Cp 2	5.396	253325
	Cp 3	5.397	341475
	Cp 4	5.398	291782
	Cp 5	5.394	282794
	Cp 6	5.397	330560
Moyenne	/	5.397	295347

Le pourcentage de Fluvastatine sodique dissoute durant deux heures, des six comprimés est de 19.88%, cette valeur est dans les normes [10% - 45 %], donc le résultat est conforme.

Après 4 h , le chromatogramme de dissolution-FLUVASTATINE LDM 80 mg (figure 25) a été comparé au chromatogramme du standard (figure 22). Le pic principal du Fluvastatine est de 5.388.

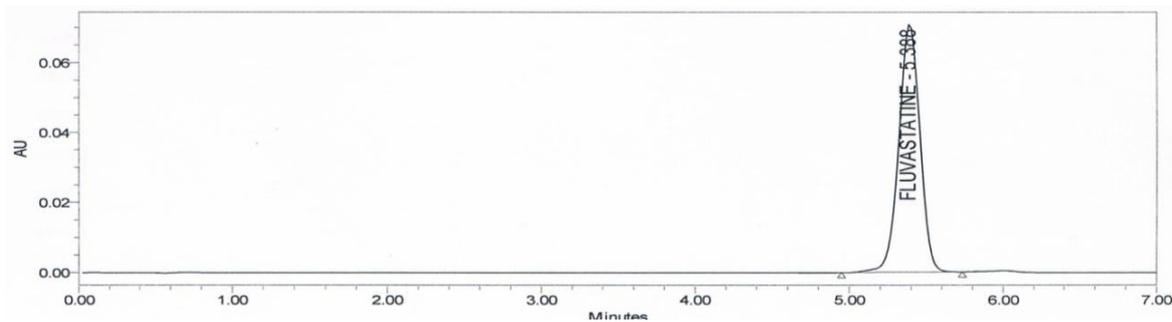


Figure 25 Chromatogramme de dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 4h (305 nm)

La moyenne des temps de rétention et de la surface des 6 comprimés du FLUVASTATINE LDM 80 mg (tableau 27), ont été utilisées pour le dosage du pourcentage de Fluvastatine dissoute.

Tableau 27 Dissolution du FLUVASTATINE LDM 80 mg après 4h

	FLUVASTATINE	TR	Surface
	Cp 1	5.384	672680
	Cp 2	5.392	605913
	Cp 3	5.393	747318
	Cp 4	5.393	647352
	Cp 5	5.393	602531
	Cp 6	5.388	820383
Moyenne	/	5.391	682696

Le pourcentage de Fluvastatine sodique dissoute dans les 4h de chacun des six comprimés est de 48.79 % cette valeur est dans les normes [40 - 70 %], donc le résultat est conforme.

Après 8h le chromatogramme de dissolution-FLUVASTATINE LDM 80 mg (figure 26) a été comparé au chromatogramme du standard (figure 22). Le pic principal de Fluvastatine est de 5.383.

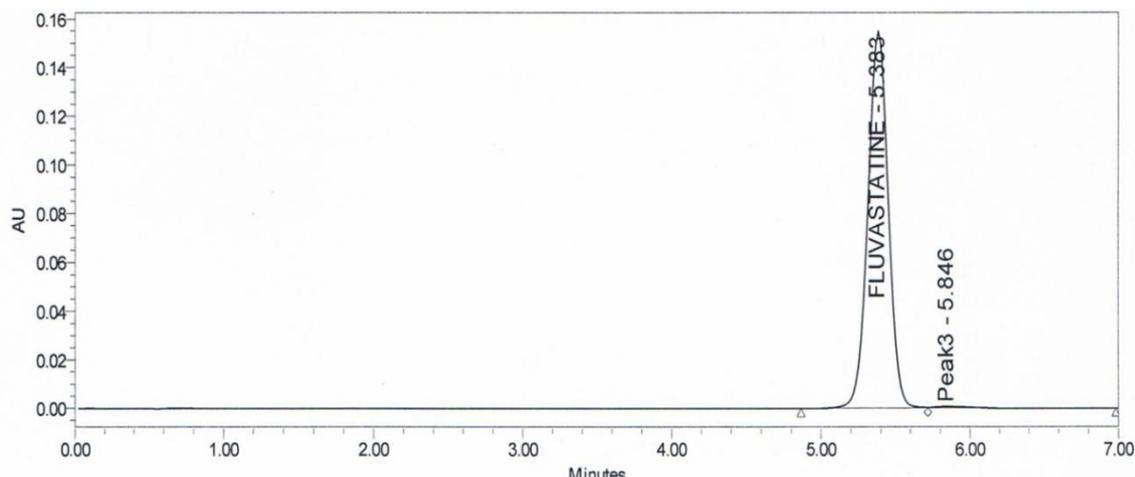


Figure 26 Chromatogramme de dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 8h (305 nm)

La moyenne du temps de rétention et celle de la surface des 6 comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg (tableau 28), ont été utilisés pour le dosage du pourcentage de la Fluvastatine dissoute après 8 h.

Tableau 28 Dissolution FLUVASTATINE LDM 80 mg après 8 h

	FLUVASTATINE	TR	SURFACE
	Cp 1	5.383	1466020
	Cp 2	5.384	1432476
	Cp 3	5.382	1510773
	Cp 4	5.393	1410669
	Cp 5	5.382	1383019
	Cp 6	5.376	1563989
Moyenne	/	5.383	1461158

Le pourcentage de Fluvastatine sodique dissoute dans les 8h de chacun des six comprimés est de 106.59 %, cette valeur est supérieure ou égale à (\geq) 75% (norme) donc le résultat est conforme

Les résultats des 4 prélèvements concernant le pourcentage de la dissolution du produit fini sont résumés dans le tableau 29.

Tableau 29 Dissolution des comprimés de FLUVASTATINE LDM 80 mg comparée à la norme

Temps	Pourcentage de la dissolution (moy.des 6 cp)	Normes %	Conformité
30 min	1.80	≤ 15 %,	Conforme
2 h	19.88	[10 - 45 %]	
4 h	48.79	[40 - 70 %]	
8 h	106.59	≥ 75%	

L'interprétation de ces résultats montre que le produit fini (FLUVASTATINE LDM 80 mg) est conforme et que la dissolution des comprimés se fait en libération prolongée.

4.1.2.4- Dosage

Le dosage du Principe actif contenu dans la FLUVASTATINE LDM 80 mg de trois lots 5174 ; 5175 et 6079 a été fait par HPLC et détecté à deux longueur d'onde 305 nm et 365 nm. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 30.

Tableau 30 Pourcentage du dosage FLUVASTATINE LDM 80 mg

Lots	Essais	Surface du STD	Masse du STD	Surface Essai	Masse Essai	Poids moléculaire	DOS%	Moyenne du DOS%
5174	Inj. 1	7337428	42.2	7274250	3405.2	34328	97.97	98.03
	Inj. 2			7306414	3405.2		98.40	
	Inj. 3			7255872	3405.2		97.73	
5175	Inj. 1			7478844	3399.9		97.54	97.84
	Inj. 2			7487297	3399.9		97.64	
	Inj. 3			7489319	3399.9		98.36	
6079	Inj. 1			7745537	3401.1		104.26	104.26
	Inj. 2			7744677	3401.1		104.20	
	Inj. 3			7750473	3401.1		104.33	

La moyenne du dosage des échantillons des trois lots est dans les normes [90-110 %], donc le dosage des trois lots (5174, 5175 et 6079) est conforme.

➤ **Le dosage des substances apparentées**

Les impuretés retenues dans la FLUVASTATINE LDM 80 mg des trois lots précédents ont été identifiés par HPLC. Les chromatogrammes obtenus du standard déterminés à deux longueurs d'onde (305 nm et 365nm) sont présentés sur les figures 27 et 28 respectivement.

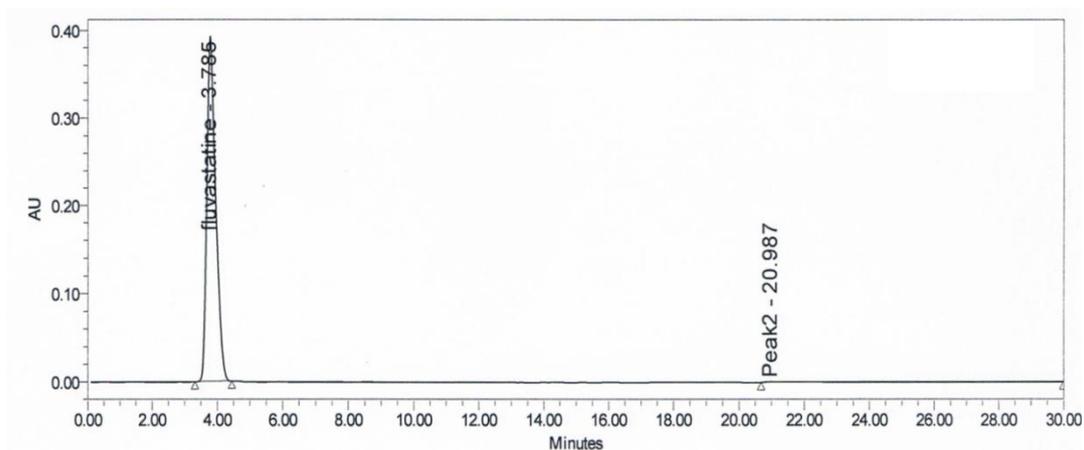


Figure 27 Chromatogramme standard- dosage Fluvastatine sodique (305 nm.)

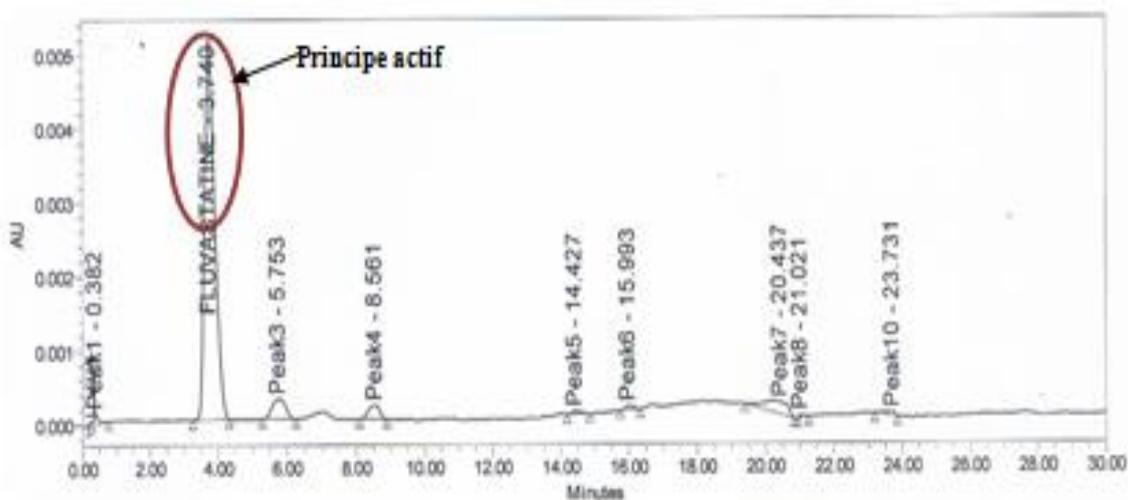


Figure 28 Chromatogramme standard- Fluvastatine sodique (365 nm)

L'interprétation du chromatogramme du standard-Fluvastatine a donné le temps de rétention du pic principal de Fluvastatine qui est de 3.785.

Les chromatogrammes obtenus avec le standard détecté à 305 nm (figure 27) et ceux des échantillons examinés (figure 29) ont été utilisés pour identifier les impuretés (Fluvastatine anti-isomer , Fluvastatine Hydrocidiene , Fluvastatine short-chain aldehyde et les impuretés inconnue à 305 nm , alors que , les chromatogrammes obtenus avec le standard détecté à 365 nm (figure 28) et ceux des échantillons examinés (figure 29) ont été utilisés pour identifier et déterminer l'impureté 3-Hydroxy-5-Keto Fluvastatine .

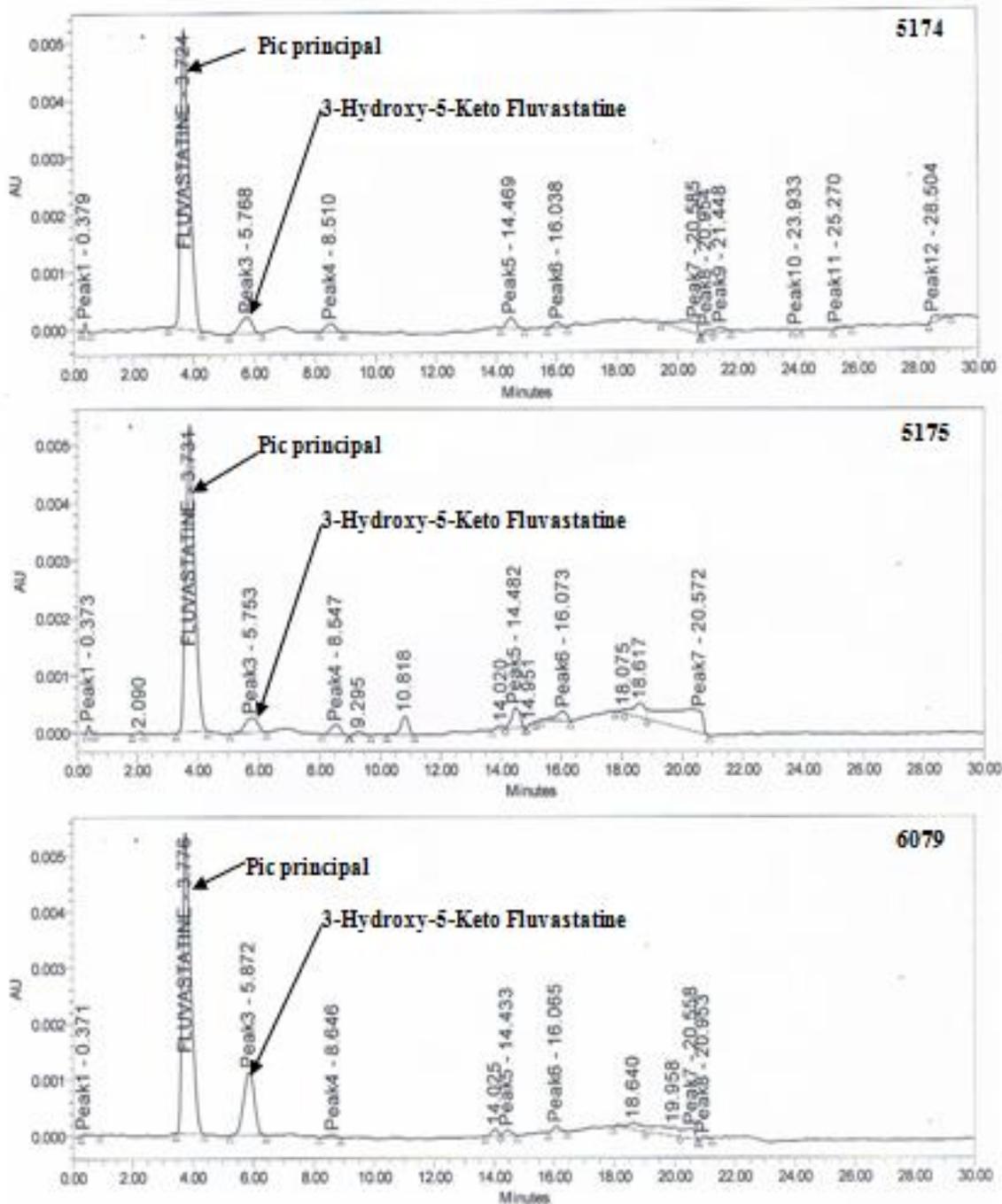


Figure 29 Chromatogrammes des 3 lots de FLUVASTATINE 80 mg 5174 ,5175 et 6079

L'analyse de ces chromatogrammes montre l'apparence du pic principal de la FLUVASTATINE 80 mg ainsi que les autres pic relatifs aux impuretés dans les trois lots testés. Les résultats de l'identification des substances apparentés sont résumés dans le tableau 31.

Dosage l'impureté 3-Hydroxy-5-keto Fluvastatine (365 nm)							
N° lot	Surface STD	Concentration du standard (mg/ml)	Temp de retention relatives	Surface du pic du 3-Hydroxy-5-Keto Fluvastatine	Concentration de Fluvastatine sodique (mg/ml)	DOS%	Norme
5174	101484	0,42	5.768	7894	0,588	0.067	≤1.0%
5175			5.753	7613	0,588	0.065	
6079			5.753	7902	0,588	0.068	

Tableau 31 Dosage des impuretés pour le lot 5174

Il est important de signaler que la même procédure a été suivie pour identifier et déterminer les impuretés des autres lots (Annexe 01), sachant que l'impureté 3-Hydroxy-5-keto Fluvastatine (tableau 30) est la seule qui a été dosée (0.86 %). Cette valeur est inférieure à 1.00 % (normes), alors que les autres impuretés n'ont pas été détectées.

Tous ces testes de contrôles physico-chimiques sur la FLUVASTATINE 80 mg sont conformes aux normes de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition. Pour cela un certificat de conformité a été établi par l'opérateur vérifié par l'examineur et validé par la hiérarchie.

Concernant les autres excipients : povidone, bicarbonate de potassium et l'hypermellose les contrôles physico-chimiques et microbiologiques ont été effectués et les résultats obtenus sont conformes à la norme de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition

4.1.3-Tests au cours de fabrication (*in process*)

Les résultats des analyses physico techniques pratiqués sur matière première produit semi fini et produit fini sont résumés dans le tableau 32.

Tableau 32 Les caractères physico-chimiques des produits testés *in process*

Tests	Résultats	Normes	Conformité
Test du volume apparent	La différence entre les 2 derniers volumes = 1.8 ml	Différence \leq 2ml	conforme
Test de granulométrie	En traçant la courbe de granulométrie, son allure est celle d'une courbe en cloche	Courbe en cloche	
Test d'étanchéité	Blistères intacts et comprimés saints	Aucune infiltration à l'intérieur du blister	
Test de dureté	Moy.=110 N	[90- 155N]	
Test de friabilité	0.5%	\leq 1.0 %	
Test du taux d'humidité	2.1%	\leq 3.5 %	

Selon les spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition, les résultats d'analyses physicochimiques obtenus *In process* appartiennent à l'intervalle de confiance (tableau 32), par conséquent le produit est conforme et peut être transféré au conditionnement secondaire et l'analyse microbiologique.

4.2- Contrôle microbiologique des substances testées

4.2.1-Contrôle microbiologique de la matière première

Après la période d'incubation, la lecture des résultats de dénombrement des germes aérobies viables totaux, des levures et des moisissures a été effectuée par un comptage des colonies, alors que la lecture des résultats de la recherche des germes spécifiques a été effectuée par l'observation à l'œil nu puis confirmée par des tests d'identification.

4.2.1.1- Contrôle microbiologique de la Fluvastatine sodique (principe actif)

Les résultats du contrôle microbiologique du principe actif Fluvastatine sodique sont récapitulés dans le tableau 33.

Tableau 33 Résultats du contrôle microbiologiques relatifs au principe actif Fluvastatine sodique

Paramètres	Résultats	Normes
Dénombrement des germes aérobies mésophiles viables totaux	00UFC/g	$\leq 10^3$ UFC/ g
Dénombrement des levures et moisissures totales	00 UFC/g	$\leq 10^2$ UFC/ g
Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	Absence /g	Absence /g
Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	Absence /g	Absence /g
Recherche de <i>Pseudomonas aéroginosa</i>	Absence /g	Absence /g
Recherche de <i>Salmonella</i>	Absence / 10 g	Absence /10 g

Ce tableau indique que tous les résultats appartiennent à l'intervalle de spécification. Ce qui conclu que les résultats obtenus sont conformes.

4.2.1.2-Excipients

4.2.1.2.1 : Excipient 1 : Cellulose microcristalline

Les résultats du contrôle microbiologique de l'excipient cellulose microcristalline sont récapitulés dans le tableau 34 .

Tableau 34 Résultats du contrôle microbiologiques relatifs à l'excipient cellulose microcristalline

Paramètres	Résultats	Normes
Dénombrement de germes aérobies mésophile viable Totaux	00 UFC / g	$\leq 10^3$ UFC / g
Dénombrement des levures et moisissures totales	00 UFC / g	$\leq 10^3$ UFC / g
Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	Absence /g	Absence /g
Recherche de <i>Salmonella</i>	Absence / 10g	Absence /10g
Recherche de <i>Pseudomonas aéruginosa</i>	Absence /g	Absence /g
Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	Absence /g	Absence /g

Les résultats obtenus montrent l'absence totale d'*E. Coli*, de *Salmonella* de *Pseudomonas aéruginosa* et de *Staphylococcus aureus*. Cette absence signifie que la substance analysée est conforme.

4.2.1.2.2- Excipient 2 : Stéarate de magnésium

Les résultats du contrôle microbiologique de l'excipient stéarate de magnésium sont récapitulés dans le tableau 35.

Tableau 35 Résultats du contrôle microbiologiques relatifs à l'excipient Stéarate de magnésium

Paramètres	Résultats	Normes
Dénombrement de germes aérobies mésophile viable totaux	00 UFC / g	$\leq 10^3$ UFC / g
Dénombrement des levures et moisissures totales	00 UFC / g	$\leq 10^2$ UFC / g
Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	Absence /g	Absence /g
Recherche de <i>Salmonella</i>	Absence / 10g	Absence /10g

Le tableau ci-dessus confirme que tous les résultats appartiennent à l'intervalle de spécification ce qui signifie que les résultats du contrôle microbiologiques relatifs à l'excipient Stéarate de magnésium sont conformes.

4.2.1.2.3-Excipient 3 : Eau purifiée

La qualité microbiologique de l'eau purifiée doit répondre aux normes de la Pharmacopée européenne, dont le nombre de germes recherchés doit être ≤ 100 UFC/ ml. Les résultats obtenus du dénombrement de la première boîte (N1) est égale à 19 colonies et le deuxième boîte (N2) est égale à 15 colonies, le nombre d'UFC totale est la moyenne calculée sur les deux boîtes : Nombre d'UFC/ml = $\frac{N1+N2}{2} = \frac{19+15}{2} = 17$ colonies. Cette valeur est ≤ 100 UFC/ ml, ce qui confirme que l'eau purifiée est conforme aux normes.

4.2.2- Contrôle microbiologique de FLUASTATINE LDM 80 mg (produit fini)

Les résultats du contrôle microbiologique de produit fini FLUASTATINE LDM 80 mg sont récapitulés dans le tableau 36.

Tableau 36 Résultat du contrôle microbiologique relatif à la FLUVASTATINE LDM 80 mg

Paramètres	Résultats	Normes
Dénombrement de germes aérobies mésophile viable totaux	00 UFC / g	$\leq 10^3$ UFC / g
Dénombrement des levures et moisissures totales	00 UFC / g	$\leq 10^2$ UFC / g
Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	Absence /g	Absence /g

Selon la pharmacopée européenne, le produit fini (FLUVASTATINE LDM 80 mg) est satisfait à l'essai, dont il ya une absence totale de germes aérobies mésophile viable totaux, des levures et moisissures, Ainsi pour les germes spécifiques d'*E.coli*, et ce indique que le produit fini est conforme.

Conclusion

5. Conclusion et perspectives

Dans cette étude, un contrôle physico-chimique et microbiologique d'un médicament générique LDM qui est la FLUVASTATINE LDM 80 mg partant de sa matière première et ses excipients et allant jusqu'au produit fini a été effectué dont le but d'établir la conformité de toutes ces substances avec la norme pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

Il a été conclu de cette partie que, le médicament générique choisi pour cette étude est un médicament spécifique pour l'unité LDM d'une part et l'étude de son analyse physico-chimique et microbiologique pour toute la chaîne de production est une première dans le présent travail d'une autre part.

Différentes analyses de contrôle physico-chimiques et microbiologiques), ont été réalisées au niveau du laboratoire de contrôle et au niveau de la production (*In process*) de l'unité LDM.

Les résultats obtenus, de ces tests, permettant de conclure que toutes les substances testées sont conformes par rapport aux normes exigées par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

Aussi, il a été conclu à partir de cette étude au niveau du LDM, que toute installation de production des médicaments LDM fonctionne avec l'aval des autorités de santé, et elle a mis en œuvre une politique de la qualité afin de garantir, dans l'intérêt de la santé publique, que ses médicaments délivrés soient conformes à la qualité requise dans le dossier d'autorisation sur le marché.

Toutefois, nous n'avons nullement l'intention de prétendre que les études effectuées lors de ce travail sont complètes par rapport aux différents contrôles effectués, néanmoins, nous affirmant que ce travail nous a permis d'acquérir une expérience et de consolider nos connaissances dans le domaine pharmaceutique.

Quelques perspectives découlent de cette recherche. En fait, des études plus approfondies nécessaires concernant les points suivants :

- Effets thérapeutique et le mode d'action du médicament.
- Effets secondaires éventuels de ce médicament.

Résumés

Résumé

Afin d'obtenir une action thérapeutique toujours identique avec un même produit pharmaceutique, ce dernier doit présenter des caractéristiques constantes et parfaitement définies.

L'objectif de cette étude consiste en le contrôle physico-chimique et microbiologique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg produite par l'unité de production de médicament du laboratoire LDM Constantine, et ce dans le but d'établir la conformité de toutes les substances testées (matière première, excipients et produit fini) avec la norme pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

Différentes analyses de contrôle physico-chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de contrôle et au niveau de la production (*In process*) de l'unité LDM : HPLC, IR conductivité ..., etc. Les résultats obtenus, de ces tests, permettant de conclure que toutes les substances testées sont conformes.

Par ailleurs, l'analyse microbiologique a été faite juste sur le principe actif, le produit fini, l'eau purifiée et les deux excipients (stéarate de magnésium et cellulose microcristalline).

Les résultats obtenus montrent que le nombre de bactéries viables totales, levures et moisissures sont inférieurs aux normes prescrites par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

Le médicament générique FLUVASTATINE LDM 80 mg est considéré de bonne qualité pharmaceutique.

Mots clés

FLUVASTATINE LDM 80 mg, principe actif, excipients, pharmacopée européenne 8^{ème} édition, contrôle physico-chimiques, contrôle microbiologique.

6. Abstract

In order to obtain an always identical therapeutic action with the same pharmaceutical product, the latter must exhibit constant and perfectly defined characteristics.

The objective of this study is the physico-chemical and microbiological control of FLUVASTATINE LDM 80 mg, produced by the drug production unit of the LDM Constantine laboratory, starting with its raw material and its excipients and going to the finished product this is intended to establish the conformity of all these substances with the European pharmacopoeia norm 8th edition.

The various physicochemical control analysis was carried out in different laboratory i.e, control and production (In process): HPLC, IR conductivity ..., etc. This enabled us to conclude that the substances and the product studied were compliant.

Furthermore, the microbiological analysis was carried out just on the active ingredient, the finished product, the purified water and the two excipients (magnesium stearate, microcrystalline cellulose).

The results show that the number of total viable bacteria, yeast and mold is below the standards prescribed by the European Pharmacopoeia 8th edition.

The generic drug FLUVASTATINE 80 mg is therefore considered to be of good pharmaceutical quality.

Keywords

FLUVASTATINE LDM 80 mg, active ingredient, excipients, European pharmacopoeia 8th edition, physico-chemical control, microbiological control.

7- ملخص

من أجل الحصول على إجراء علاجي متطابق دائما مع نفس المنتج الصيدلاني يجب أن تظهر خصائص ثابتة ومحددة تماما لهذا الأخير.

الهدف من هذه الدراسة هو الرقابة الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية لفلوفاستاتين 80 مغ المنتجة من طرف وحدة الإنتاج LDM بقسنطينة بدءا من المادة الفعالة و السواغ إلى المنتج النهائي و هذا من اجل الحصول على مطابقة للمواد المختبرة مع المعايير المنصوص عليها في دستور الأدوية الأوروبية الطبعة الثامنة .

لهذا الغرض، تم استخدام عدة تحاليل المراقبة الفيزيوكيميائية مختلفة نذكر منها : IR, HPLC,.... الخ . مما مكننا من استنتاج أن المواد المختبرة متوافقة مع المعايير المنصوص عليها في دستور الأدوية الأوروبية الطبعة الثامنة. سواغ (سنيارات و علاوة على ذلك، تم إجراء التحليل الميكروبيولوجي فقط على المادة الفعالة ،المنتج النهائي،المياه النقية و المغنيزيوم، سيليلوز ميكروبلوري) .

وأظهرت النتائج أن عدد البكتيريا والخميرة والعفن أقل من المعايير المنصوص عليها في دستور الأدوية الأوروبية الطبعة الثامنة بالتالي يعتبر الدواء فلوفاستاتين 80 مغ من نوعية جيدة صيدلانية.

الكلمات المفتاح

فلوفاستاتين 80 مغ، المادة الأولية، المنتج النهائي ، دستور الأدوية الأوروبية الطبعة الثامنة ، الرقابة الفيزيوكيميائية، الرقابة الميكروبيولوجية.

Références
Bibliographiques

8. Références bibliographiques

- ✚ Abbes D. (2010). "Etude physico- chimique et formulation d'un dérivé pyrido (3.2) quinoline triméthyle". Thèse doctorat .Faculté de pharmacie de Marseille.
- ✚ Aiache J.M, Aiache S, Cohen Y, Renoux R. (2001).Initiation à la connaissance du médicament. 4^{ème} éditions, Masson.
- ✚ Ansm. (2012).Code de la santé publique article 15138-1.
- ✚ Ansm. (2013).Bonnes pratiques de fabrication.
- ✚ Ansm. (2016).Le code de la santé publique article l. 5121-15.

- ✚ Benvenuti M. (2014).Validation, qualification and calibration in a pharmaceutical facility.
- ✚ Boudendouna A. (2010)." Méthodologie de la formulation d'une forme orale solide à libération prolongée". Thèse doctorat Université Toulouse.
- ✚ Boudier Y. (2014)." qualification d'un système de production et de distribution d'eau pour préparation injectable ".Thèse doctorat .Université de Toulouse.
- ✚ BPF France. (2016). the world health organization.
- ✚ Chast F. (2016). Médicaments en 100 questions ; taillandier.
- ✚ Claverie O .(2014)."l'aromatisation des compléments alimentaire un enjeu de formulation ". Thèse doctorat pharmacie .Université de Toulouse 3.
- ✚ Codex œnologique international. (2002). cellulose microcristalline, oeno 9.
- ✚ Courtois A, Bonnefous C, Pillet M. (2003). Gestion de production.
- ✚ Crepy L. (2010)."Conception et mise en forme de nouveaux matériaux à partir de macromolécules naturelles." Thèse doctorat. Chimie organique, université d'Artois.
- ✚ Ernoul R. (2013). Le grand livre de la qualité : management par la qualité dans l'industrie, une affaire de méthodes édition afnor page 17-23.
- ✚ Gagnault J .C. (1982).Principe de la recherche d'un médicament. Lavoisier.
- ✚ Hammoumi N. (2014). Le système qualité pharmaceutique mise à niveau du système qualité d'une unité de production de formes sèches (antibiotiques bêta lactamines).
- ✚ Hecquard P. (2010). Le médicament générique rapport adopté lors de la session u conseil national de l'ordre de médecine.

- ✚ Holloway.K . (2004). Les comités pharmaceutiques et thérapeutiques, guide pratique

- ✚ Husson H. (2011).Matières premières pharmaceutiques, mondialisation et santé publique, académie nationale de pharmacie.
- ✚ ICH Q 9. (2005). Gestion du risque qualité.
- ✚ ICH Q10. (2008).Système qualité pharmaceutique.
- ✚ ICH Q10.(2013). Système qualité pharmaceutique.

- ✚ Labaune JP.(1988) .Pharmacocinétique, Principes fondamentaux. 2e édition Masson, Paris .
- ✚ Lanoux B, Lerch C, Bénézech D, Lambert G. (2003). Système comparaison de deux cas d'implantation de l'iso90001.Documentaire de l'assurance qualité et structure des processus .vol 8, no 4.

- ✚ Lloyd R , Snyder, Joseph J, Kirkland, and. Dolan J. W. (2009).Introduction to Modern Liquid Chromatography, 3rd Ed.
- ✚ Lloyd, J.U. (1911). History of the Vegetable Drugs of the Pharmacopeia of the United States. Pharmacy series (4). Page 1.

- ✚ Mayé P. (2003). Les infrarouges en électronique, Paperback .
- ✚ Morrison B. (2014). Chromatography .Shimadzu's .LC world talk newsletter.

- ✚ Pic S, (2011).Recommendation on the validation of aseptic processes.
- ✚ Pifferi G, Restani P. (2003).The safety of pharmaceutical excipients. IL farmaco, 58, 541-550.

- ✚ Pilon S, (2016).médicaments essentiels.

- ✚ Raymond C, Rowe P. (2009). Handbook of excipients, 6^{ème} édition .
- ✚ RoggoY. (2010).Spectroscopie proche infrarouge pour l'industrie agroalimentaire: Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche Paperback .

- ✚ RossettoY . (1998).Pharmaco technique industrielle, chapitre 2, I.M.T édition.

- ✚ SegeonT. (2005).Le conditionnement des formes sèches et son dossier de lot : exemple de comprimés et des gélules, 81p.

- ✚ Vidal. (2017).base de données en ligne des prescripteurs libéraux
- ✚ Vital D, Durant C. 2017).Le jeune guide pratique des médicaments, 36^{ème} édition, Maloine.

- ✚ WHO. (2003).Application of hazard analysis and critical control point (haccp) methodology to pharmaceuticals, technical report series n°908.
- ✚ WHO. (2006).Supplementary guidelines on good manufacturing practices: validation, technical report series n°937.
- ✚ WHO. (2011).Good manufacturing practices for pharmaceutical products: main principles, technical report series n°961.
- ✚ WHO.(2002).Guidelines on packaging for pharmaceutical products, technical report series n°902.
- ✚ Winek C. L. (2000).History of excipients safety and toxicity. Drugs pharm. Sci.103, 59-72.
- ✚ Zaid A ,Abualhacan M,Qaddume A ,Jodeh S. (2012). international journal of drug delivery 4 229-235 development of film coated atrovastin calcium tablet using opadry.

Annexes

9. Annexes

Annexe 1

Dosages

- **Dosage des métaux lourds dans la matière première :** afin d'établir ce test plusieurs solutions ont été préparées à savoir ; la solution témoin, la solution à examiner, la solution de contrôle et la solution à blanc, pour ce faire :

Solution à examiner : Dans un creuset de silice, la prise d'essai 2 g de substance à examiner a été introduite dans 4 ml de solution de sulfate de magnésium à 250 g/l et d'acide sulfurique dilué R; puis mélangé à l'aide d'une fine baguette de verre, le mélange a été chauffé progressivement à 600°C max jusqu'à carbonisation afin d'obtenir des cendres pratiquement blanches ou au plus grisâtre ; une fois refroidit ; le résidu a été humecté avec quelques gouttes d'acide sulfurique dilué R; La durée totale de la calcination ne doit pas dépasser 2 h, le résidu a été repris à 2 reprises par 5 ml d'acide chlorhydrique dilué R à la fin 0,1 ml de solution de phénolphaléine R, et de l'ammoniaque concentrée R ont été rajoutés jusqu'à coloration rose, puis 0,5 ml d'acide acétique glacial R a été additionnée jusqu'à décoloration .

Solution témoin : le même procédé a été utilisé pour la préparation de la solution à examiner en utilisant 2ml de solution à 10 ppm de plomb (Pb) R au lieu de la substance à examiner, 10 ml des 20 ml obtenus a été prélevé et 2 ml de solution à examiner a été ajoutée.

Solution de contrôle : le même procédé a été utilisé pour la préparation de la solution à examiner sauf, 2 ml de solution à 10 ppm de plomb (Pb) a été ajouté à la substance à examiner 10 ml des 20 ml obtenus a été prélevé et 2 ml de solution à examiner a été ajouté.

Solution à blanc : 10 ml d'eau purifiée a été mélangé avec 2 ml de solution à examiner.

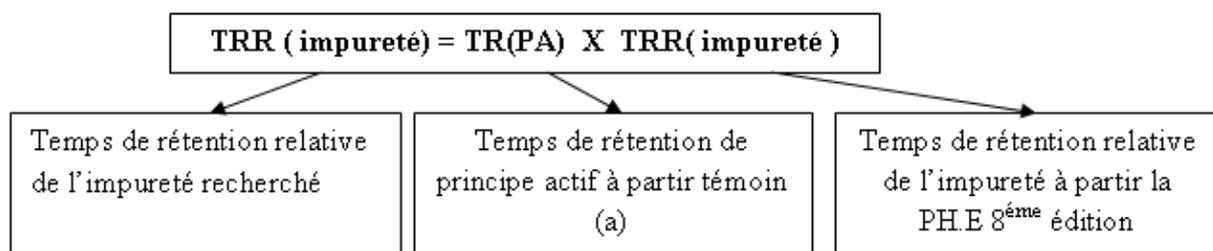
Dans les quatre tubes au 12 ml de cette solution, 2 ml de solution tampon pH 3,5 et 1,2 ml de réactif au thioacétamide ont été additionnées ; le mélange obtenue a été examiné après 2 min, la lecture de la coloration de la solution à examiner à été comparé au blanc, et à la solution témoin ; la coloration de la solution de contrôle doit être moins intense que celle de la solution témoin. Les résultats des dosages ont été résumés dans le tableau

acide perchlorique (ml)	potential du lot 0610217	potential du lot 0620217	potential du lot 0630217	potential du lot 0640217
0	320	326 ,4	329,3	326,9
0 ,5	324	334,3	334,8	335,3
1	331,6	338,2	337,9	343,1
1,5	335,4	343,3	342,6	350,1
2	340,7	348,2	355,3	357,4
2 ,5	345,5	353,3	362,4	363,6
3	350,4	358,2	373,8	370,1
3,5	357,4	364,3	377,6	380,9
4	361,4	370,4	380,1	394,4
4,5	367,0	377,2	383,3	404,1
5	373,4	386,6	390,2	418,5
5,5	380,4	390,1	394,5	441,5
6	390,8	402,3	403,4	543,4
6,5	405,3	530,1	423,2	587,1
7	424,1	564,9	577,3	593,3
7,5	523,1	570,1	587,3	601,3
8	546,3	573,1	613,2	601,2
8,5	561,9	575,3	624,4	602,7
9	569,9	577,4	630,2	603,2
9,5	574,6	578,2	632,3	
10	576,8		634,7	

Tableau dosage Fluvastatine sodique

➤ **Recherche des substances apparentées de la Fluvastatine Sodique**

Le temps de rétention relative de chaque impureté a été déterminé selon la formule suivante :



➤ **Dosage des métaux lourds dans l'eau purifiée :** le contrôle de présence des métaux lourds dans l'eau purifiée a été nécessaire ; trois solutions ont été préparés, pour se faire ;

Solution à examiner : 200 ml d'eau purifiée ont été mélangés avec 0,15 ml d'acide nitrique 0,1 M , le mélange obtenue a été chauffé au bain-marie dans une capsule de verre, jusqu'à réduction du volume à 20 ml, puis 12 ml de la solution concentrée a été prélevé qui satisfont à l'essai.

Solution témoin : 2 ml d'eau purifiée ont été mélangés avec 10 ml de solution à 1 ppm de plomb et 0,075 ml d'acide nitrique 0,1 M

Solution à blanc : 2 ml d'eau purifiée ont été ajoutés au 0,075 ml d'acide nitrique 0,1 M. A chaque solution, 2 ml du tampon Ph 3.5 et 1.2 ml de réactif au thioacétamide, ont été rajouté ; le mélange obtenu a été examiné après 2 min. Le contrôle a été comparé la couleur de la solution à examiner avec le blanc et le témoin.

➤ **dosage des impuretés dans FLUVASTATINE 80 mg**

Le lot 5174 :

Impureté Fluvastatine anti-isomer : le temps de rétention de pic principale a été obtenu par le chromatogramme de la solution examinée qui a été égale à 3,733, d'après l'équation précédemment : $TRR (imp.) = 3,733 \times 1,2 = 4,4796$, cette valeur obtenue a été cherchée dans le tableau résultat examiné du lot 5174 à 305 nm cette impureté n'est pas détectée

Impureté fluvastatine Hydroxidienne : le temps de rétention de pic principale a été obtenu par le chromatogramme de la solution examinée qui a été égale à 3,733, d'après l'équation précédemment : $TRR (imp.) = 3,733 \times 2,2 = 8,21$, cette valeur obtenue a été cherchée dans le tableau résultat examiné du lot 5174 à 305 nm cette impureté n'est pas détectée.

Impureté Fluvastatine short-Chain aldéhyde : le temps de rétention de pic principale a été obtenu par le chromatogramme de la solution examinée qui a été égale à 3,733, d'après l'équation précédemment : $TRR (imp.) = 3,733 \times 3,2 = 11,94$, cette valeur obtenue a été cherchée dans le tableau résultat examiné du lot 5174 à 305 nm cet impureté n'est pas détecté.

Impureté inconnue : il n'y a pas des % surface supérieur à 0,05%, donc cet impureté n'est pas détecté.

Impureté 3-Hydroxy-5-Keto Fluvastatine : le temps de rétention de pic principale a été obtenu par le chromatogramme de la solution examinée qui a été égale à 3,733, d'après l'équation précédemment : $TRR(imp.) = 3,733 \times 1,6 = 5,96$, cette valeur obtenue a été cherchée dans le tableau résultat examiné du lot 5174 à 365 nm l'aire de cette impureté a été égale à 7894. après le pourcentage de l'impureté a été déterminé selon la formule suivante :

$$3 - Hydroxy - 5 - Keto Fluvastatine = 100 \times \frac{1}{F} \times \frac{411,5}{433,5} \times \frac{C_s}{C_t} \times \frac{Re\ 365}{Rs\ 365}$$

$$= 100 \times \frac{1}{27} \times \frac{411,5}{433,5} \times \frac{42,2}{100} \times \frac{200}{3405,2} \times \frac{10}{1} \times \frac{103805}{101484} = 0,89 \%$$

La présence de 3-Hydroxy-5-Keto fluvastatine dans la FLUVASTATINE LDM 80 mg est 0,89 % qui a été $\leq 1,0 \%$ (la norme) donc le lot est conforme ..

Tableau dosage des impuretés FLUVASTATINE LDM 80 mg pour les trois lots

Impureté	Lots		5174	5175	6079
	TRR	F			
Fluvastatine anti-isomer	1,2	1,0	4,4796 ND	4,4976 ND	4,488 ND
Fluvastatine Hydroxidiene	2,2	0,92	8,2126 ND	8,2456 ND	8,228 ND
Fluvastatine short-chain aldehyde	3,2	1,4	11,9456 ND	11,9936 ND	11,968 ND
Imp. Inc.	/	1,0	/ ND	/ ND	/ ND
3-Hydroxy-5-keto Fluvastatine	1,6	27,0	5,9728	5,9968	5,984
TR du pic principale (Fluvastatine)			3,733	3,748	3,740

Tableau dosage l'impureté 3-Hydroxy-5-keto Fluvastatine

Dosage l'impureté 3-Hydroxy-5-keto Fluvastatine						
N° lot	Surface STD (365 nm)	Cs (mg/ml)	Surface Essai	Ce (mg/ml)	DOS%	
5174	101484	0,42	103805	0,588	0,89	
5175	101484	0,42	104833	0,588	0,90	
6079	101484	0,42	108203	0,588	0,93	

- STD : standard
- Cs : concentration standard
- Ce : concentration essai
- DOS % : dosage des impuretés en %

➤ **Calcul d'indice d'acide pour le stéarate de magnésium:** Le titrage est terminer lorsque la couleur rose prescrite pendant au moins 15 secondes ; le volume du réactif titrant a été noté **n = 8,1 ml** en plus la masse de stéarate de magnésium est **m = 0,2264 g** , et l'indice d'acidité a été mesuré selon la formule suivante :

$$I_a = \frac{5,610 \cdot n}{m} = \frac{5,610 \times 8,1 \text{ ml}}{0,2264 \text{ g}} = 200,71$$

I = 200,71 a été dans la norme [195 -210], donc le lot 0530117 est conforme

➤ **Calcul de la perte à la dessiccation de stéarate de magnésium :** Après avoir déterminé la différence de poids avant chauffage et après chauffage. Le calcul du pourcentage de matière minérale (LOD) incluse dans l'échantillon de stéarate de magnésium a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{LOD \%} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100 = \frac{25,8813 - 25,8522}{25,8813 - 24,8765} \times 100 = 2,50 \%$$

LOD % = 2,50 % a été \leq 6,0 % (la norme) Ceci conclu que le lot 0530117 est conforme.

Tableau les pesées effectuées pour déterminer LOD de stéarate de magnésium

Pesses effectuées	W ₁	W ₂	W ₃
Masse (g)	24,8765	25,8813	25,8522

➤ **dosage du stéarate de magnésium :**

Essai 1 : V₁ = 10,1 ml (volume essai) et V_b = 20,1 ml (blanc)

1 ml d'édétate de sodium 0,1 M correspond à 2,431 mg de Mg (Ph. Euro. 8^{ème} édition)

1ml —————→ 2,43mg (norme)

X ? —————→ 500,1 mg (la prise d'essai) ,

X : le volume théorique d'édétate de sodium; Donc : X = 205,80 ml d'édétate de sodium .

Lorsque : 205,80 ml d'édétate de sodium —————→ 100 % de Mg

Pour V_b - V₁ = 10 ml —————→ Y % ? , Y = 4,85 %

Quand il dit un matière dessécher : la dose obtenue a été multiplier à 100 et diviser à 100 moins LOD (test de perte à la dessiccation) .C'est-à-dire :

$$\text{DOS}_1 = 4,85 \times \frac{100}{100 - \text{LOD}} = 4,85 \times \frac{100}{100 - 2,50} = 4,97\%$$

➤ **dosage des impuretés présentes dans FLUVASTATINE sodique (PA)**

Le lot 0610217 :

Impureté A : le temps de rétention de pic principale a été obtenu par le chromatogramme de la solution témoin (a) qui a été égale à 15,943, d'après l'équation précédemment : $TRR (imp. A) = 15,943 \times 1,05 = 16,74015$, cette valeur obtenue a été chercher dans le tableau résultat examiné du lot 0610217 à 305 nm pour extraire la surface de pic de cet impureté qui été égale à 33724, d'après la norme « imp. A < surface pic principale fois quatre » c'est-à-dire : $101437 * 4 = 405748$, donc : $33724 < 405748$.

Impureté B : le temps de rétention de pic principale a été obtenu par le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) qui a été égale à 15,943, d'après l'équation précédemment : $TRR (imp. B) = 15,943 \times 1,6 = 25,5248$, cette valeur obtenue a été chercher dans le tableau résultat examiné du lot 0610217 à 305 nm pour extraire la surface de pic de cet impureté qui a été égale à 3875, d'après la norme « imp. B < surface pic principale » , donc : $3875 < 101437$.

Impureté D : le temps de rétention de pic principale a été obtenu par le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) qui a été égale à 15,754, d'après l'équation précédemment : $TRR (imp. D) = 15,754 \times 1,1 = 17,3294$, cette valeur obtenue a été chercher dans le tableau résultat examiné du lot 0610217 à 365 nm pour extraire la surface de pic de cet impureté qui égale à 1380, d'après la norme « imp. D < la surface de pic principale fois 0,75 » c'est-à-dire : $101437 \times 0,75 = 76077,75$, donc : $1380 < 76077,75$.

Impureté non spécifiées (inconnu) : pour chaque impureté, au maximum 0,5 fois la surface du pic principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a), Non détecté.

Somme des impuretés à 305 nm : le temps de rétention de pic principale a été obtenue par le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) est égale 15,943, d'après la norme : « surface de imp A+ surface imp B < la surface de pic principale fois cinq » c'est-à-dire : $(33724 + 3875 = 37599) < (101437 * 5 = 507185)$, donc : $37599 < 507185$

Essai 2 : $V_2 = 9,5$ ml et $V_b = 19$ ml

1ml \longrightarrow 2,43mg (norme)

X ? \longrightarrow 489,9 mg (la prise d'essai),

X : le volume théorique d'édétate de sodium; Donc : $X = 205,72$ ml d'édétate de sodium.

Lorsque : 205,72 ml d'édétate de sodium \longrightarrow 100 % de Mg

$V_b - V_2 = 9,5 \text{ ml}$ \longrightarrow $Y\% ?$, $Y = 4,61 \%$

$$DOS_2 = 4,61 \times \frac{100}{100 - LOD} = 4,61 \times \frac{100}{100 - 2,5} = \mathbf{4,72\%}$$

$$\text{La moyenne : } \frac{DOS_1 + DOS_2}{2} = \frac{4,97 + 4,72}{2} = \mathbf{4,84 \%}$$

Dos = 4,84 %a été \leq [4-5 %] (la norme) ceci conclu que le lot 0530117 est conforme

Annexe 2

Préparation des solutions pour le contrôle physicochimiques

- **Solution de chlorure de zinc iodée :**

6,5 g d'iodure de potassium R et 20 g de chlorure de zinc R ont été dissous dans 10,5 ml d'eau R, puis 0,5 g d'iode R a été rajouté .

- **Tétraminecuivre (solution ammoniacale) :**

36,5 g de sulfate de cuivre R ont été dissoute dans 100 ml d'eau R , puis de l'ammoniaque concentrée R, a été ajouté goutte à goutte, jusqu' à ce que le précipité foré se dissolve entièrement . à 20°C, 30 ml de solution concentrée d'hydroxyde de sodium R a été ajouté , la solution finale a été filtrée.

- **Solution à 100 ppm de plomb (pb)**

0,1 pour cent de plomb (pb) au 1 / 10 a été dissoute avec de l'eau

- **Réactif au thioacétamide :**

0,2 ml de solution de thioacétamide R ,ont été ajoutés à 1 ml d'un mélange composé de 5 ml d'eau R , de 15 ml d'hydroxyde de sodium 1m et de 20 ml de glycérol à 85 pour cent R . le melange final a été chauffé dans un bain-marie pendant 20 s .

- **Perchlorique (acide) 0,1 M :**

900 ml d'acide acétique glacial R a été mélangé avec 8,5 ml d'acide perchlorique R et 30 ml d'anhydride acétique R le mélange a été complété à 1000,0 ml avec de l'acide acétique glacial R .

- **L'eau exempte de dioxyde de carbone R**

L'eau purifiée est bouillie pendant quelques minutes, puis refroidit et conservé à l'abri de l'air.

- **Solution d'hydroxyde de tetramethylammonium R**

25gr de Tétraméthylammonium hydroxide penta hydraté on étés pesés et dissous et dans l'eau purifiée ; puis 40 ml de cette solution on été prélevé et dilué dans l'eau purifiée ; le pH de la solution a été ajusté à 7.2 ± 0 .

- **Solution tampon pH 3,5 R**

25,0g et 38,0 ml d'acide chlorhydrique d'acétate d'ammonium ont étés dissoutes dans 25 ml d'eau purifiée et le mélange a été complété à 100,0 ml avec de l'eau purifiée

- **Perchlorique (acide) 0,1 M**

8,5 ml d'acide perchlorique R ont été ajoutés à 30 ml d'anhydride acétique et le mélange a été complété à 1000,0 ml.

- **Solution de chlorure de zinc iodée**

6,5 g d'iodure de potassium R et 20 g de chlorure de zinc R ont été dissoutes dans 10,5 ml d'eau R , puis 0,5 g d'iode R ont étés ajoutés

- **Acide nitrique dilué**

14,17 acides nitriques dans 100 ml Ep.

- **solution de phénolphtaléine**

0,1 g de phénolphtaléine ont été dissoute dans 80 ml d'éthanol 96% et le mélange a été complété à 100 ml avec de l'eau purifiée

✓ essai de sensibilité solution de phénolphtaléine

0,1 ml de solution de phénolphthaléine, a été ajouté à 100 ml d'eau exempte de dioxyde de carbone. La solution est incolore. Le virage au rose de l'indicateur ne nécessite pas plus de 0,2 ml d'hydroxyde de sodium 0,02M ; zone de virage : pH 8,2 (incolore) à pH10,0 (rouge)

- **Acide chlorhydrique 0,1 M**

100,0 ml d'acide chlorhydrique 1 M a été ajouté à 1000 ml avec de l'eau purifiée
détermination du titre

- **Édétate de sodium 0,1 M**

37,5 g d'édétate de sodium ont été dissoutes dans 500ml d'eau purifiée, puis 100 ml d'hydroxyde de sodium 1 M a été ajoutée au mélange ; la solution a été complétée à 1000,0 ml avec de l'eau purifiée.

- détermination du titre : 0,120 g de zinc ont été dissoutes dans 4 ml d'acide chlorhydrique R1 et 0,1 ml d'eau de brome,

- **Mélange composé au mordant noir 11 R**

1 g de mordant noir 11 et 99 g de chlorure de sodium

✓ essai de sensibilité : 50 mg de mélange composé au mordant noir 11 ont été dissoutes dans 100 ml d'eau purifiée. la solution est brune-violet ; la solution vire au bleu, lorsqu' 0,3 ml d'ammoniaque diluée a été ajouté puis vire au violet par addition de 0,1 ml d'une solution de sulfate de magnésium à 10 g/l

- **Sulfate de zinc 0,1 M**

29 g de sulfate de Zinc ont été dissoutes dans l'eau purifiée le mélange a été complété à 1000,0 ml avec le même solvant.

✓ détermination de titre : 20 ml de la solution de sulfate de zinc ont été ajoutés à 5 ml d'acide acétique dilué, et effectuez le dosage du zinc par complexométrie

- **Nitrate d'argent R2**

1,7063 g dans 100 ml EP

- **2ppm de nitrate**

la solution à 10 ppm de nitrate (N02) a été diluée au 1/5 avec de l'eau purifiée

- **La solution tampon Sodium Phosphate**

9.0g de Dihydrogène-phosphate de sodium monohydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (annexe) ont été préparé dans 1000 ml d'eau purifiée ; puis ; le pH à 2.5 ± 0.1 a été ajusté avec l'acide phosphorique 85% V/V.

- **Préparation milieux de culture recommandés :**

- **Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja TSB**

- ✓ Peptone pancréatique de caséine 17,0 g
- ✓ Peptone papique de soja 3,0 g
- ✓ Chlorure de sodium 4,3 g
- ✓ Phosphate dipotassique 2,5 g
- ✓ Glucose monohydraté 2,5 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à $7,3 \pm 0,2$ à 25°C après stérilisation

- **Solution tampon peptone au chlorure de sodium pH 7,0 TSE**

- ✓ Phosphate mono potassique 3,6 g
- ✓ Phosphate disodique dihydraté 7,2 g équivalent à 0,067 M de phosphate
- ✓ Chlorure de sodium 4,3 g
- ✓ Peptone de viande ou de caséine 1,0 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le mélange a été stérilisé à l'autoclave

- **Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja TSA**

- ✓ Peptone pancréatique de caséine 15,0g
- ✓ Peptone papaique de soja 5,0 g
- ✓ Chlorure de sodium 5,0 g
- ✓ Gélose 1,0 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à $7,3 \pm 0,2$ à 25°C après stérilisation ;

- **Milieu sabouraud dextrosé-gélosé SDA**

- ✓ Dextrose 40,0 g
- ✓ Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine 10,0 g

- ✓ Gélose 15,0 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 5,6 +/- 0,2 à 25 °C après stérilisation ;

- **Milieu liquide sabouraud dextrosé**

- ✓ dextrose 20,0 g
- ✓ Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine 10,0 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 5,6 +/- 0,2 à 25 °C après stérilisation

- **Milieu d'enrichissement pour les entérobactéries-Mossel**

- ✓ Hydrolyse pancréatique de gélatine 10,0 g
- ✓ Glucose monohydraté 5,0 g
- ✓ Bile de bœuf déshydratée 20,0 g
- ✓ Phosphate monopotassique 2,0 g
- ✓ Phosphate disodique dihydraté 8,0 g
- ✓ Vert brillant 15 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 7,2 +/- 0,2 à 25 °C après chauffage à 100 °C pendant 30 min

- **Milieu gélosé à la bile-violet-rouge avec glucose VRBG**

- ✓ Extrait de levure 3,0 g
- ✓ Hydrolysate pancréatique de gélatine 7,0 g
- ✓ Sels biliaires 1,5 g
- ✓ Chlorure de sodium 5,0 g
- ✓ Glucose monohydraté 10,0 g
- ✓ Gélose 15,0 g
- ✓ Rouge neutre 30 mg
- ✓ Violet cristallisé 2 mg
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 7,4 +/- 0,2 à 25 °C après chauffage à ébullition

- **Milieu liquide de MacConKey MCB**

- ✓ Hydrolysate pancréatique de gélatine 20,0 g
- ✓ Lactose monohydraté 10,0 g
- ✓ Bile de bœuf déshydraté 5,0 g
- ✓ Pourpre de bromocrésol 10 mg
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 7,3 +/- 0,2 à 25 °C après stérilisation

- **Milieu gélosé de MacConKey MCA**

- ✓ Hydrolysate pancréatique de gélatine 17,0 g
- ✓ Peptones de viande et de caséine 3,0 g
- ✓ Lactose monohydraté 10,0 g
- ✓ Chlorure de sodium 5,0 g
- ✓ Sels biliaires 1,5 g
- ✓ Gélose 13,5 g
- ✓ Rouge neutre 30,0 mg
- ✓ Violet cristallisé 1 mg
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 7,1 +/- 0,2 à 25 °C après stérilisation,

- **Milieu liquide d'enrichissement pour les salmonelles Rappaport-Vassiliadis**

- ✓ Peptone de soja 4,5 g
- ✓ Chlorure de magnésium hexahydraté 29,0 g
- ✓ Chlorure de sodium 8,0 g
- ✓ Phosphate dipotassique 0,4 g
- ✓ Phosphate monopotassique 0,6 g
- ✓ Vert malachite 0,036 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 5,2 +/- 0,2 à 25 °C après chauffage et passage à l'autoclave .

- **Milieu gélosé xylose-lysine-désoxycholate XLD**

- ✓ Xylose 3,5 g
- ✓ L-lysine 5,0 g
- ✓ Lactose monohydraté 7,5 g

- ✓ Saccharose 7,5 g
- ✓ Chlorure de sodium 5,0 g
- ✓ Extrait de levure 3,0 g
- ✓ Rouge de phénol 80 mg
- ✓ Gélose 13,5 g
- ✓ Désoxycholate sodique 2,5 g
- ✓ Thiosulfate de sodium 6,8 g
- ✓ Citrate ferrique et d'ammonium 0,8 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 7,4 +/- 0,2 à 25 °C après chauffage à ébullition

- **Milieu gélose mannitol-sel (chapman)**

- ✓ Peptone pancréatique de caséine 5,0 g
- ✓ Peptone peptique de tissu animal 5,0 g
- ✓ Extrait de viande de boeuf 1 ,0 g
- ✓ D-Mannitol 10,0 g
- ✓ Chlorure de sodium 75,0 g
- ✓ Gélose 15,0g
- ✓ Rouge de phénol 0,025 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml

Le pH est ajusté à 7,4 +/- 0,2 à 25°C après stérilisation

- **Milieu gélosé-cétrimide**

- ✓ Hydrolysate pancréatique de gélatine 20,0 g
- ✓ Chlorure de magnésium 1,4 g
- ✓ Sulfate dipotassique 10,0 g
- ✓ Cétrimide 0,3 g
- ✓ Gélose 13,6 g
- ✓ Eau purifiée 1000 ml
- ✓ Glycérol 10,0 ml

le pH est ajusté à 7,2 +/- 0,2 à 25°C après stérilisation.

Noms et Prénoms : DAIKH Takoua DAFRI Fouzia	Date de soutenance : 11/09/2017
--	--

**Thème : Contrôle qualité physico-chimique et microbiologique de la
FLUVASTATINE LDM 80 mg**

Résumé : Afin d'obtenir une action thérapeutique toujours identique avec un même produit pharmaceutique, ce dernier doit présenter des caractéristiques constantes et parfaitement définies.

L'objectif de cette étude consiste en le contrôle physico-chimique et microbiologique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg produite par l'unité de production de médicament du laboratoire LDM Constantine, et ce dans le but d'établir la conformité de toutes les substances testées (matière première, excipients et produit fini) avec la norme pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

Différentes analyses de contrôle physico-chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de contrôle et au niveau de la production (*In process*) de l'unité LDM : HPLC, IR conductivité ..., etc.

Les résultats obtenus, de ces tests, permettant de conclure que toutes les substances testées sont conformes.

Par ailleurs, l'analyse microbiologique a été faite juste sur le principe actif, le produit fini, l'eau purifiée et les deux excipients (stéarate de magnésium et cellulose microcristalline).

Les résultats obtenus montrent que le nombre de bactéries viables totales, levures et moisissures sont inférieurs aux normes prescrites par la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

Le médicament générique FLUVASTATINE LDM 80 mg est considéré de bonne qualité pharmaceutique.

Mot clés : FLUVASTATINE LDM 80 mg, principe actif, excipients, pharmacopée européenne 8^{ème} édition, contrôle physico-chimiques, contrôle microbiologique.

Laboratoires :

Laboratoire de Diagnostic Magrébins (LDM)

Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM)

Président de jury: Mr. KACEM CHAUCHE N

Rapporteur : Mme.KARA ALI M.

Examinatrice : Mme CHOUARFA F.

Responsable de stage : Mme BENCHAIB F.

Prof. Univ. Constantine 1.

Dr. Univ. Constantine 1.

Dr. Univ. Constantine 1

Responsable contrôle qualité LDM