Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université YAHIA FARES - MEDEA

Faculté des sciences

Département des Sciences de la nature et de la vie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme
Master II en Biologie

Option : Microbiologie appliquée

Thème

CONTROLE DE LA QUALITE PHARMACOLOGIQUE D'UN ANTIANEMIQUE ZANITRA PLUS®

Présenté par :

Mr. FERHAT ABDERRAHMANE

Mr. SLAMA SOFIANE

Mr. SHAREN ALAA-EDDINE

Date de soutenance :

10/09/2018

Mr. BOUBAKRI .K	**Maitre-assistant A**	**UYFM**	**Président**
Mr. CHAMI .B	**Maitre-assistant A**	**UYFM**	**Examinateur**
Mlle. HOCEINI .A	**Maitre assistante B**	**UYFM**	**Promoteur**

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMM : Autorisation de mise sur le marché.

ARN : Acide ribonucléique.

ATC: Anatomical therapeutic chemical classification system.

DCI : Dénomination commercial internationale.

DHF : Dihydrofolate.

LCR : Liquide céphalo-rachidien.

ORL : Oto-rhino-laryngologie.

pH : Potentiel d'hydrogène.

ppm : partie par million.

R : Pure.

R1 : Diluée une fois.

R2 : Diluée deux fois.

® : Marque déposée.

SCR : Substance chimique de référence

THF : Tétra-hydrofolique.

UFC : Unité formant une colonie.

Vitamine B12 : Cobalamine.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Formes galéniques les plus courantes…….. 5
Tableau II : Comparaison de la spécialité au générique...…….. 9
Tableau III : Composition complète de ZANITRA PLUS® ……..... 12
Tableau IV : Les principes actifs du ZANITRA PLUS®…….……..... 13
Tableau V : Présentations des échantillons…….……... 22
Tableau VI : Normes exigées des poids moyens…..…….. 25
Tableau VII : Normes exigées du Taux de dissolution……..… 34
Tableau VIII : Procédé de développement colorimétrique……..…….…. 35
Tableau IX : Procédé de développement colorimétrique…….…….……. 37
Tableau X : Résultat du test visuel des gélules vides……...…….……..... 51
Tableau XI : Résultat de l'identification de la gélatine……...…….…….. 51
Tableau XII : Résultat de l'identification du dioxyde de titane……...…….. 52
Tableau XIII : Résultat du test de l'odeur……..…….……... 52
Tableau XIV : Résultat du poids moyen…….…….…….. 52
Tableau XV : Résultats du taux de perte……..……...…….…..... 53
Tableau XVI : Résultat du temps de désagrégation……..…….. 53
Tableau XVII : Résultat du test d'arsenic……..……..…..… 53
Tableau XVIII : Résultat du test des métaux lourds…….……...……...……...… 54
Tableau XIX : Résultat du taux du lubrifiant……..... 54
Tableau XX : Résultat du taux d'anhydride sulfureux..……..……..…. 55
Tableau XXI : Résultats du taux des cendres sulfuriques……..… 55
Tableau XXII : Résultat du test visuel du produit fini……..…. 56
Tableau XXIII : Résultats des poids moyens……..……..……..… 56
Tableau XXIV : Résultats des poids moyens net……..……..… 57
Tableau XXV : Résultats d'uniformité de masse……...…….……...… 57
Tableau XXVI : Résultat de l'identification des sulfates ferreux…….……..….. 58
Tableau XXVII : Résultats du test de dissolution…….. 58
Tableau XXVIII : Résultats du dosage des sulfates ferreux……..…… 59
Tableau XXIX : Résultats du dosage de l'acide folique.……...…… 59
Tableau XXX : Résultats du contrôle de pureté microbienne des gélules ……..…..... 60
produit fini (ZANITRA PLUS ®) (Lot N° :101)

Tableau XXXI : Résultats du contrôle de pureté microbienne des gélules ……...… 61
produit fini (ZANITRA PLUS ®) (Lot N° :102)
Tableau XXXII : Résultats du contrôle de pureté microbienne des gélules …….…… 62
produit fini (ZANITRA PLUS®) (Lot N° :103)
Tableau XXXIII : Résultats du contrôle de la toxicité anormale ……..… 63
du produit fini (ZANITRA PLUS®)

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Mise en forme d'un médicament…… 2
Figure 2 : Gélules de ZANITRA PLUS®…….….. 7
Figure 3 : Les formes réduites de l'acide folique…… 16
Figure 4 : Métabolisme de l'acide folique……...……... 16
Figure 5 : Métabolisme du fer……. 18
Figure 6 : Schéma du dénombrement des bactéries aérobies viables totales…….. 41
Figure 7 : Schéma du dénombrement des levures et moisissures……... 42
Figure 8 : Schéma du dénombrement des Entérobactéries……. 44
Figure 9 : Schéma de recherche de Staphylococcus aureus et d'Escherichia coli…..…... 46
Figure 10 : Schéma de recherche des Salmonelles**...**……...……... 48
Figure 11 : Résultats du test visuel de gélule vide ……. ANNEXE 4
Figure 12 : Résultat de l'identification de la gélatine……. ANNEXE 4
Figure 13 : Résultat de l'identification du dioxyde de titane……...……... ANNEXE 4
Figure 14 : Résultat du test visuel du produit fini…….**.....** ANNEXE 4
Figure 15 : Résultat de l'identification des sulfates ferre….**.....** ANNEXE 4

TABLE DE MATIERE

Introduction..... 1

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES MEDICAMENTS

I.1- Définition 2
I.2- Mise en forme du médicament 2
I.2.1- Principe actif 2
I.2.2- Excipient..... 3
I.2.3- Récipient..... 3
I.3- Les différents types de médicament..... 3
I.3.1- Selon le mode de fabrication..... 3
I.3.2- Selon La législation médicamenteuse..... 3
I.4- Fonctions des médicaments..... 4
I.4.1- Fonctions thérapeutiques..... 4
I.4.2- Fonctions diagnostiques..... 4
I.5- Voies d'absorption des médicaments..... 4
I.6 - Les différentes formes pharmaceutiques..... 5
I.7- Médicaments génériques..... 8
I.7.1- Définition et contexte..... 8
I.7.2- Principe de bioéquivalence..... 8

CHAPITRE II : L'ANEMIE

II.1- Définition 10
II.2- Symptômes et signes de l'anémie..... 10
II.3- Les anémies carentielles 10
II.4- Diagnostic et traitement de l'anémie..... 11

CHAPITRE III : ZANITRA PLUS ®

III.1- Caractéristiques du ZANITRA PLUS®…….…….. 12
III.2- Forme et présentation…….……..……. 12
III.3- Classe pharmaco thérapeutique……..... 12
III.4- Classe ATC…….…….. 12
III.5- Composition……..…… 12
III.5.1- Les principes actifs……...…….. 13
III.6- Propriétés des principes actifs…….…….. 14
III.6.1- L'acide folique……..... 14
III.6.2- Le fer……...……... 17
III.7- Indications et posologies du ZANITRA PLUS®……..…… 18
III.7.1- Indications…….……..... 18
III.7.2- Posologie…….....……... 18
III.8- Effets indésirables……. 19
III.9- Mise en garde et précaution d'emploi ……...…… 19
III.10- Interactions médicamenteuses et autres interactions……... 19

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Matériel……..……..... 20
I.2. Méthodes……..…….…….. 23
I.2.1. Contrôles physicochimiques…….…..…….....· 23
I.2.1.1. Contrôle physicochimique des gélules vides……...…….…… 23
a - Caractères…….....…….....· 23
b - Identification de la gélatine……..…… 24
c - Identification du dioxyde de titane……...……...…….. 24
d - Odeur…….……..…….. 24
e - Poids moyen……...……... 25
f - Perte à la dessiccation……..…….. 25
g - Temps de désagrégation……..…….. 26
h - Arsenic…….....…….…..….....· 26

i - Métaux lourds …… 27
g - Lubrifiant.…….….. 28
k - L'anhydride sulfureux…….……. 29
l - Cendres sulfuriques……..... 30
I.2.1.2 - Contrôle physicochimique du produit fini……..... 30
a - Caractères organoleptiques…….……..... 31
b - Poids moyen…….... 31
c - Poids moyen net……...…… 31
d - Uniformité de masse…….…..... 32
e - Identification des principes actifs……..…….... 32
f - Test de dissolution……..... 33
g - Dosage des principes actifs par spectrophotométrie UV/ VISIBLE…..... 34
I.2.2. Contrôles microbiologiques des gélules …….. 39
produit fini (ZANITRA plus®)
II.2.2.1. Dénombrement des germes viables totaux……..... 39
II.2.2.2. Recherche de micro-organismes spécifiés…….……..…… 43
I.2.3. Contrôle toxicologique des gélules …….. 49
produit fini (ZANITRA plus®)
II.2.3.1 - But…….……..... 49
II.2.3.2 - Principe…….……..……..…… 49
II.2.3.3 - Méthode……..... 49

II. RESULTATS ET INTERPRETATIONS
II.1- Résultats du contrôle physicochimique…….……..……. 51
II.1.1. Gélules vides……..... 51
II.1.2. Produit fini……..... 56
II.2. Résultats du contrôle microbiologique du produit fini……....……. 60
II.3. Résultats du contrôle de la toxicité du produit fini……..... 63
DISCUSSION GENERALE…..…….... 64
CONCLUSION……..... 66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
ANNEXES
Glossaire
Résumé

INTRODUCTION

Un médicament peut être défini comme toute substance introduite dans un organisme vivant, animal ou homme, ou appliquée sur cet organisme, en vue de prévenir ou de guérir une maladie, ou seulement d'atténuer certaines de ces manifestations, ou encore d'établir un diagnostic **(PIERRE, 1999).**

Le processus de défense de l'organisme évolue parfois de façon anormale et déclenche des maladies auxquelles on oppose différents types de médicaments parmi eux : les antianémiques **(GARNIER., 1995).**

Selon l'OMS, 30 % de la population mondiale est anémiée dont les jeunes enfants représentent 43 %, et 51 % est représenté par les femmes enceintes. La principale cause est la carence en acide folique, vitamine B12 et la carence en fer. On a enregistré plus de 2 milliards de carence en fer dans le monde **(ANONYME a, 2009).**

En Algérie, quelques enquêtes nationales effectuées en 1998 par des chercheurs algériens, ont montré que les femmes enceintes représentent 32,3% et les enfants (de 6 à 59 mois) représentent 23,2% des anémiés. Ce pourcentage était de 90% dans le sud algérien et particulièrement dans la wilaya de Tamanrasset **(ANONYME b, 2009).**

Les carences d'apport, en fer et en folates sont plus fréquentes dans les pays en voie de développement où les gens ne peuvent assurer l'alimentation qui apporte les quantités suffisantes de fer et d'acide folique, ni assurer le traitement nécessaire pour affronter l'anémie. C'est ce qui nous amène à parler des médicaments génériques, moins chers que les médicaments de spécialités et plus disponibles.

Le ZANITRA PLUS®, est un antianémique composé d'une association de deux principes actifs, le sulfate ferreux (150 mg) et l'acide folique (0,5 mg). C'est un générique sous forme de gélules utilisés dans le traitement des anémies carencielles.

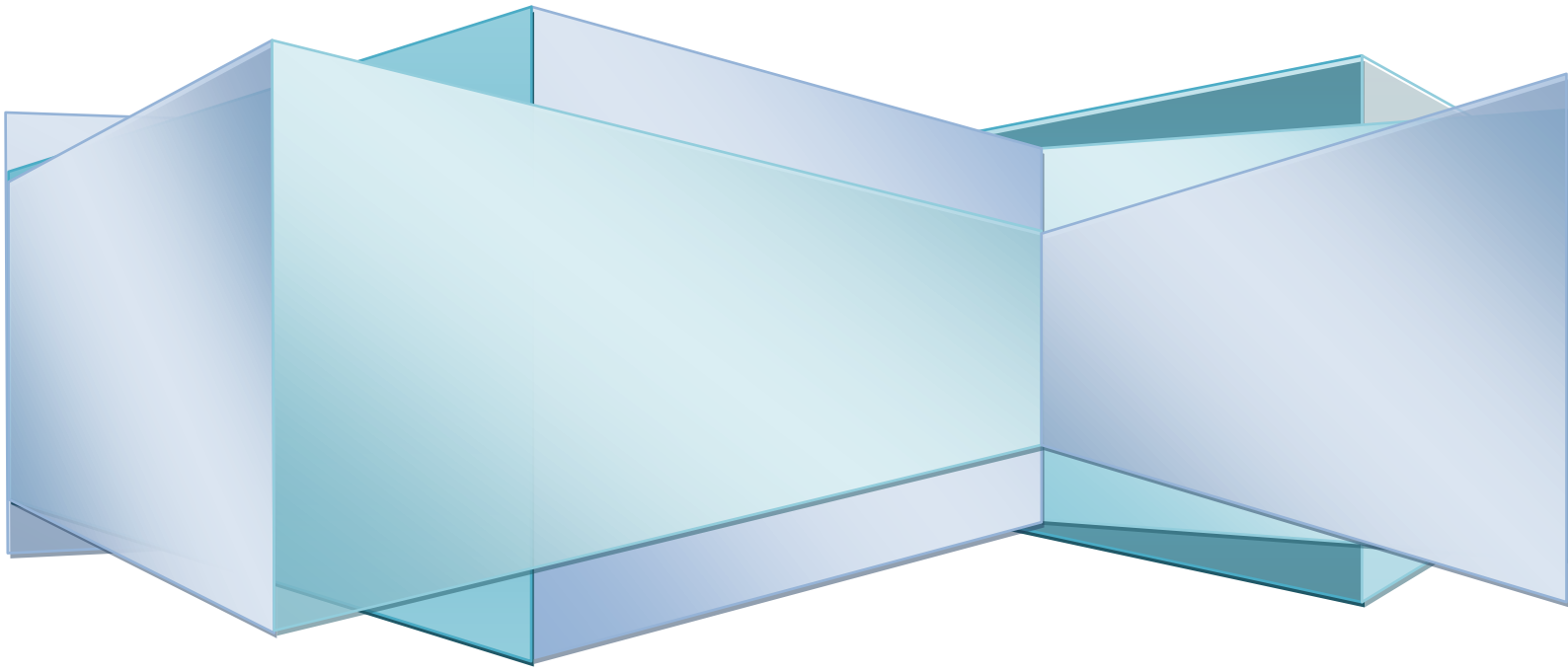
Selon **(SCRIBAN, 1999),** la fabrication et le conditionnement de tout produit pharmaceutique nécessite des contrôles physico-chimiques et microbiologiques, à différentes étapes afin d'assurer une qualité ultérieure optimale.

Dans ce contexte s'inscrit notre travail qui consiste en trois objectifs :

- Le contrôle des paramètres physicochimiques des gélules vides et du produit fini ZANITRA PLUS®.
- Le contrôle microbiologique du produit fini ZANITRA PLUS®.
- Contrôle de la toxicité anormale du produit fini ZANITRA PLUS®.

Ces contrôles sont nécessaires pour s'assurer que le ZANITRA PLUS® est conforme sur le plan physicochimique, microbiologique et toxicologique aux normes établis par la Pharmacopée Européenne (2008).

Synthèse bibliographique



CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES MEDICAMENTS

I.1- Définition

"On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique" **(DELAMARE, 2004).**

Les médicaments peuvent être obtenus de sources très diverses : Végétale, animale, synthétique, biogénétique. **(MOULIN, 1998).**

I.2- Mise en forme du médicament

Un médicament se compose d'un ou de plusieurs principes actifs et d'excipients, l'ensemble étant contenu dans un récipient **(Figure 1) (TALBERT., 2001).**

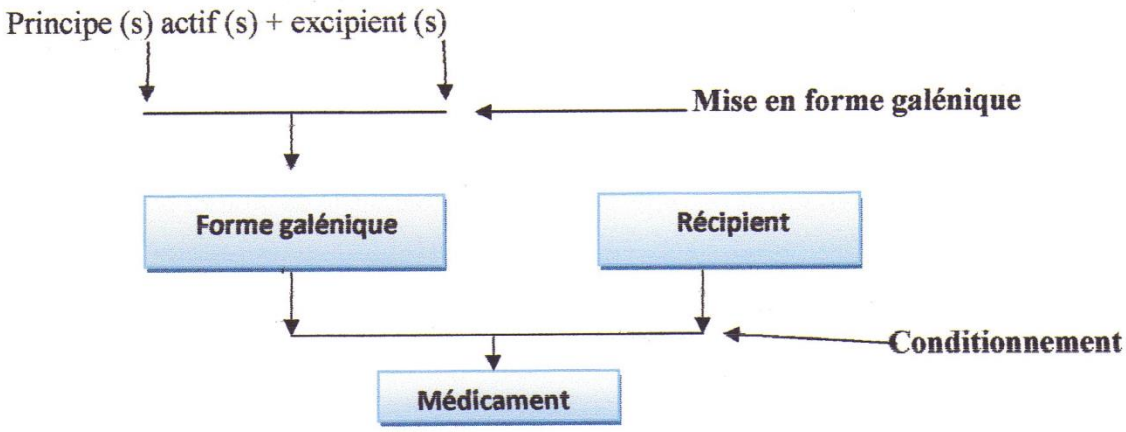


Figure 1 : Mise en forme d'un médicament **(TALBERT., 2001).**

I.2.1- Principe actif

Le principe actif est une molécule biologique, minérale ou organique d'origine naturelle ou synthétique qui confère au médicament son activité thérapeutique. L'activité biologique et la toxicité de cette molécule ont été appréciées par des tests appropriés**.**

Cette substance est la plupart du temps en très faible proportion dans le médicament par rapport aux excipients **(GAIGNAULT, 1972).**

I.2.2- Excipient

Est tout composant, autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication et dont la fonction est de faciliter l'administration, la conservation et le transport de ce(s) principe(s) actif(s) jusqu'à son site d'absorption **(LE HIR, 2002).**

Les excipients utilisés en pharmacie sont extrêmement nombreux, ils peuvent être soit d'origine naturelle, synthétique ou semi-synthétique, à titre d'exemple : l'eau, les glycérides, les cires, les produits minéraux, les conservateurs, les colorants et les aromatisants **(LE HIR, 2001).**

I.2.3- Récipient

Le récipient est destiné au conditionnement, le protégeant ainsi de l'environnement extérieur. L'ensemble est regroupé dans un emballage accompagné d'une notice explicative **(TALBERT., 2001).**

I.3- Les différents types de médicament

I.3.1- Selon le mode de fabrication

Selon **(BOURIN, 1993), l**es médicaments peuvent être classés :

a - Médicaments spécialisés

Ils sont préparés à l'avance par l'intermédiaire de l'industrie pharmaceutique, conditionnés d'une manière standardisée, ils sont vendus en officine, utilisés à l'hôpital.

b - Médicaments officinaux

Ils désignent des médicaments préparés en pharmacie ou à l'hôpital suivant une prescription du codex.

c - Médicaments magistraux

Ils sont préparés par le pharmacien à la demande d'un médecin ; ce mode de préparation est couramment utilisé en dermatologie**.**

I.3.2- Selon La législation médicamenteuse

Selon **(AIACHE., 2008)**, les médicaments peuvent être classés :

a - Liste I

Sont inscrites sur cette liste les spécialités renfermant des substances actives à très faibles doses, leur utilisation pouvant donner lieu à des accidents thérapeutiques fréquents et à des effets indésirables, elle ne doit être faite que sous surveillance médicale.

b- Liste II

Elle renferme des produits « dangereux ». Il s'agit de médicaments qui, utilisés imprudemment, pourraient donner lieu à des incidents thérapeutiques.

c- Stupéfiants

Le médicament est classé stupéfiant lorsque son utilisation risque de créer une dépendance. Sa prescription se fait sur une ordonnance dite sécurisée ou protégée à l'hôpital**.**

I.4- Fonctions des médicaments

Selon **(MOULIN et COQUEREL, 2002)**, un médicament peut exercer des fonctions fort diverses :

I.4.1- Fonctions thérapeutiques

Elles peuvent être :

I.4.1.a - Préventive

Les fonctions thérapeutiques préventives sont des fonctions individuelles (vaccination, prévention individuelle du paludisme, chimio prophylaxies diverses) ou collective (chimio prophylaxies collectives de la méningite et la tuberculose).

I.4.1.b - Curative

Les fonctions thérapeutiques Curatives ont des fonctions étiologiques ; le médicament s'attaque à la cause de la maladie, substitutive ; il apporte l'élément manquant à l'organisme, et symptomatique, il s'attaque seulement aux manifestations de la maladie sans pouvoir en traiter la cause.

I.4.2- fonctions diagnostiques

Il peut s'agir d'opacifiant, de traceurs, d'agents pharmacodynamiques divers, utilisés pour réaliser des explorations fonctionnelles**.**

I.5- Voies d'absorption des médicaments

Selon **(AIACHE., 2008),** il existe plusieurs voies d'absorption des médicaments :

I.5.1- Voie orale

Le médicament est avalé, dissous dans l'estomac, puis absorbé par l'intestin et déversé dans le flux sanguin. C'est une voie simple, naturelle et très bien acceptée.

I.5.2- Voie perlinguale

Le produit est placé sous la langue et absorbé par les veines de cette région.

I.5.3- Voie locale

Elle met directement en contact le principe actif et son objectif. Les cas les plus simples et les mieux connus sont ceux des crèmes, des lotions et de certaines pommades qui, appliquées sur la peau, permettent de combattre une affection dermatologique.

I.5.4- Voie intraveineuse

L'injection intraveineuse consiste à injecter le produit dans une veine saillante grâce à la pose d'un garrot, seule une personne expérimentée peut procéder à ce type d'injection.

I.5.5- Voie intramusculaire

L'injection intramusculaire consiste à injecter le produit dans un muscle, elle se fait généralement en haut de la fesse.

I.5.6- Voie sous-cutanée

Le produit est injecté sous la peau, dans l'épiderme. L'injection se fait d'un pli de la peau (saisi entre le pouce et l'index) à la cuisse, au bras, au ventre, à rendrait où il y a petit de vaisseaux et de nerfs

I.6- Les différentes formes pharmaceutiques

Le choix de la forme galénique appelée aussi forme pharmaceutique ou médicamenteuse découle de celui de la voie d'administration comme l'indique le tableau suivant **(LE HIR, 2002)**

Tableau I : Formes galéniques les plus courantes.

VOIES	FORMES PRINCIPALES
Orale	Comprimés, gélules, solutions ou suspensions aqueuses
Parentérale	Solutions aqueuses
Rectale	Suppositoires
Vaginale	Comprimés, solutions aqueuses
Ophtalmique	Solutions aqueuses
Aérienne ORL	Solutions aqueuses pulvérisées ou non
Percutanée	Pommades et solutions

(DESCOTURES., 1988)

I.6.1- Les capsules

Les capsules sont des préparations solides constituées d'une enveloppe dure ou molle, de forme et de capacité variables, contenant généralement une dose unitaire de principe actif. Les capsules sont destinées à l'administration par voie orale. L'enveloppe est à base de gélatine ou d'autres substances dont la consistance peut être adaptée par addition, par exemple, de glycérol ou de sorbitol. D'autres excipients tels que des agents tensioactifs, des opacifiants, des conservateurs antimicrobiens, des édulcorants, des colorants autorisés par l'autorité compétente et des aromatisants peuvent également être ajoutés .Les capsules peuvent porter des indications imprimées **(LE HIR, 2002).**

Les contenus des capsules peut être solide, liquide ou de consistance pâteuse. Il est constitué d'un ou plusieurs principes actifs additionnés ou non d'excipients tels que solvants diluants, lubrifiants et désagrégeant. Le contenu ne doit pas provoquer de détérioration de l'enveloppe. En revanche, celle-ci est profondément altérée par les sucs digestifs ; il en résulte la libération du contenu.

Plusieurs catégories de capsules peuvent être distinguées :

- Les capsules à enveloppe dure ou gélules.
- Les capsules à enveloppe molle.
- Les capsules gastro-résistantes.
- Les capsules à libération modifiées.
- Les cachets.

La dénomination « capsules » est également utilisée pour des médicaments destinés à un autre usage que la voie orale, par exemple capsules vaginales, « capsules rectales » **(LE HIR, 2001).**

I.6.1.1 - Capsules à enveloppe dure ou gélules

Les capsules à enveloppe dure ou gélules comportent une enveloppe constituée de deux parties cylindriques préfabriquées ouvertes à une extrémité et dont le fond est hémisphérique. Les deux parties s'emboîtent l'une dans l'autre. Le contenu de ces capsules est généralement sous forme solide (poudre, ou granule) ; dans certains cas, il peut se présenter sous la forme de poudre encapsulée ou de micro granules **(LE HIR, 2001).**



Figure 2 : Gélules de ZANITRA PLUS® **(ORIGINAL, 2018).**

I.6.1.1.a - Composition de l'enveloppe

C'est pratiquement de la gélatine pure avec une faible teneur en eau (12-15% environ) avec en plus éventuellement un opacifiant (oxyde de titane en général), des colorants et des conservateurs autorisés .Il est à noter que l'enveloppe de gélatine n'est pas traversée par l'oxygène de l'air **(MOULIN, 1998).**

I.6.1.1.b - Avantages et inconvénients de la forme gélule

Selon **(LE HIR, 2002),** la forme gélule a remplacé, à l'officine comme dans l'industrie, la forme cachet qui était en quelque sorte une capsule dont l'enveloppe était composée d'amidon. Par rapport aux comprimés la capsule dure présente des inconvénients,

- De revenir plus cher que le comprimé non enrobé et le comprimé enrobé.
- De ne pas être fractionnable.
- De se coller plus facilement à la paroi de l'œsophage, ce qui peut entraîner une altération de celui- ci dans le cas d'un principe actif agressif

Trois facteurs favorisent ce phénomène :

- Un principe actif irritant.
- Un œsophage dont le péristaltisme est faible.
- l'administration sans eau.

Dans ces conditions, la gélule reste collée à la paroi de l'œsophage et il s'ensuit une douleur sternale et par fois une perforation.

Ce risque existe aussi avec les comprimés mais à un degré moindre. Pour les uns et pour les autre, Il est fortement conseillé de les absorber avec de l'eau et en position assise plutôt que couchée.

Cependant un certain nombre d'avantage font qu'elle doit être préférée dans certains cas :

- Mise au point de la forme plus simple.
- Nombre d'adjuvant plus réduit, ce qui facilite les contrôles
- Fabrication à sec.
- Libération plus facile des principes actifs dans le tube digestif (intérêt parfois d'ajouter un désagrégeant).
- Pour les enfants, les gélules peuvent être ouvertes et le contenu, facilement dispersé dans leur nourriture.
- A l'officine, seule la forme gélule est facilement réalisée.

I.7- Médicaments génériques

I.7.1- Définition et contexte

Les médicaments génériques sont des copies de médicaments originaux qui ne bénéficient plus d'une exclusivité commerciale (levée du brevet d'invention), ils sont destinés à se substituer au médicament original.

La spécialité principale est celle qui a bénéficié d'une AMM et qui est ou a été commercialisée. La firme productrice n'a aucun frais de recherche et de développement. De ce fait, le prix de remboursement du générique est inférieur à celui de la spécialité princeps, ce qui en fait son intérêt.

Le Code de la Santé publique définit le médicament générique comme : «…celle qui a la même composition qualitative et quantitative en principe actif, la même forme pharmaceutique, et dont la bioéquivalence avec la spécialité de référence est démontrée par des études de biodisponibilité appropriées…» **(LECHAT, 2006).**

I.7.2- Principe de bioéquivalence

La définition du médicament générique stipule que la dose du principe actif doit être identique dans le médicament générique et le médicament référence. Ce sont donc l'ensemble des excipients et des procédés de fabrication qui différent.

Néanmoins ceux-ci peuvent fondamentalement modifier la pharmacocinétique du médicament, il est donc fondamental de vérifier, par des études bien conduites que le générique est bioéquilvalent à la référence.

Pour qu'un médicament générique soit considéré bioéquivalent à la spécialité de référence, il faut que les valeurs exprimant la quantité et la vitesse (SSC, Cmax, Tmax) de passage du

principe actif au niveau systémique ne diffèrent pas de plus de 20 % c'est à dire [-10 %, +10 %]. Ceci représente numériquement un écart important, mais en général compatible avec les variations observées en médecine, en biologie **(LECHAT, 2006)**.

La bioéquivalence peut se symboliser par :

Tableau II : Comparaison de la spécialité au générique

	Spécialité	**Générique**
Principe actif	référence	Identique
Forme galénique	référence	Similaire
Dose par unité de prise	référence	Identique
Excipients	éventuellement différents	

(LECHAT, 2006)

CHAPITRE II : L'ANEMIE

II.1- Définition de l'anémie

Selon **(SMAILI, 2003),** l'anémie est un symptôme biologique qui se définit comme la diminution du taux d'hémoglobine circulante dont les valeurs varient en fonction de l'âge. On parle d'anémie au-dessous d'un taux d'hémoglobine de :

13 g/dl chez l'homme adulte.

12 g/dl chez la femme et chez l'enfant

10,5 g/dl chez la femme enceinte.

II.2- Symptômes et signe de l'anémie

Les symptômes les plus visibles de l'anémie est la pâleur de la peau (paumes des mains) et des muqueuses (muqueuses de la bouche et des conjonctives). L'autre symptôme majeur est la fatigue, qui survient a l'effort lorsque l'anémie est modérée, mais également au repos lorsqu'elle est plus sévère. Il peut apparaître chez les sujets âgés des signes d'insuffisance cardiaque, accompagnés d'œdèmes des chevilles et du visage.

A ces signes non spécifiques, communs aux différentes anémies, peuvent s'associer des symptômes propres à certaines anémies.

Les anémies hémorragiques se manifestent par une émission de sang rouge (noir lorsqu'il a été digéré) et par une soif importante. Lorsque l'anémie est très sévère, des signes de choc (chute de la tension artérielle) s'y associent.

Les anémies hémolytiques s'accompagnent souvent d'une augmentation du volume de la rate (splénomégalie, en raison de la destruction importante des globules rouges dans cet organe) et d'un ictère (en raison de l'augmentation du taux de bilirubine, pigment de la bile).

Les anémies ferriprives, par déficience de fer dans l'organisme, ainsi que les anémies mégaloblastiques, par carence en vitamine B12 et en acide folique, se caractérisent par une atrophie de la muqueuse linguale **(SMAILI, 2003).**

II.3- Les anémies carentielles

L'anémie carentielle est définie par une baisse du taux d'hémoglobine secondaire à l'indisponibilité de facteurs exogènes nécessaires à l'érythropoïèse, essentiellement le fer, les folates et la vitamine B12. Le premier est indispensable à l'hémoglobinosynthèse et les deux derniers à la synthèse de l'ADN. Les carences d'apport, en fer et folates, sont les plus fréquentes dans les pays en voie de développement. En Algérie, les données parcellaires disponibles situent la prévalence des anémies nutritionnelles autour de 20 à 30%chez l'enfant, 40% chez la femme enceinte. **(SMAILI, 2003)**

II.3.1- Les anémies par carence en facteurs anti pernicieux (Folates et Vitamines B12)

Les folates et la vitamine B12 sont des facteurs exogènes (vitamines hydrosolubles) indispensables à l'hématopoïèse, essentiellement à l'érythropoïèse ; elles interviennent dans la synthèse de l'ADN. Une carence d'une de ces deux vitamines est responsable d'une anémie macrocytaire mégaloblastique **(SMAILI, 2003).**

La vitamine B12 et l'acide folique sont des éléments essentiels de l'alimentation. Un déficit dans l'une ou l'autre de ces vitamines induit un défaut de synthèse de l'ADN dans toutes les cellules en cours de réplication de l'ADN et de division.

Comme les tissus à renouvellement cellulaire rapide sont les plus sensibles, le tissu hématopoïétique est particulièrement affecté par les carences en ces vitamines.

L'anémie mégaloblastique est un signe précoce de déficit. Le patient produit des globules macrocytaires anormaux et devient sévèrement anémique, caractérisée il y'a quelques années, cette dysmyélopoièse a été appelée anémie pernicieuse et l'étude de sa physiopathologie a conduit à la découverte de la vitamine B12 et de l'acide folique. De nos jours encore, les anomalies morphologiques des globules rouges sont importantes pour le diagnostic et le suivi du traitement par les vitamines **(SMAILI, 2003).**

II.3.2- Les anémies par carence en fer

L'anémie par carence en fer ou anémie ferriprive, est en rapport avec la diminution du fer disponible à l'hémoglobinosynthèse due à l'épuisement des réserves. L'anémie est microcytaire hypochrome arégénérative, corrigée par l'apport de fer **(SMAILI, 2003).**

II.4- Diagnostic et traitement de l'anémie

Il est fréquent qu'une anémie soit diagnostiquée sur une simple analyse de la numération formule sanguine, en absence de tout signe clinique évidente. Cependant, le diagnostic repose sur l'hémogramme (examen cytologique du sang).

Il est orienté par le volume globulaire moyen et par le taux de réticulocyte (globules rouges au début de formation), qui permet de distinguer les défauts de production médullaires des excès de perte.

Le traitement de l'anémie dépend de sa cause. Ainsi, l'anémie par carence en acide folique se traite par l'apport de cette vitamine par voie orale ; l'anémie par carence en vitamine B12 se traite par voie orale et par injection intra musculaire de vitamine B12, et l'anémie ferriprive est traitée par un apport en fer. Les transfusions sont réservées aux anémies dont la cause n'a pas de traitements **(SMAILI, 2003).**

CHAPITRE III : ZANITRA PLUS ®

III.1- Caractéristiques de ZANITRA PLUS®

ZANITRA PLUS® est le nom commercial du sulfate ferreux anhydre / acide folique (DCI), fabriqué pour la première fois au niveau de l'usine SAIDAL.

III.2- Forme et présentation

Ce sont des gélules en gélatine dure de couleur rouge opaque et blanc transparent contenant des pellettes rouges marrons, jaunes et blanches. La boite contient 30 gélules **(ANONYME a, 2018).**

III.3- Classe pharmaco thérapeutique

ZANITRA PLUS® est une préparation antianémique **(ANONYME a, 2018).**

III.4- Classe ATC

Selon **VIDAL (ANONYME b, 2009)** :

-B : sang et organes hématopoïétiques.

-B03 : préparations antianémiques.

-B03A : préparations martiales.

-B03AD : fer en association avec l'acide folique.

-B03AD03 : sulfate ferreux.

III.5- Composition

La composition complète de ZANITRA PLUS® est donnée par le tableau suivant **(ANONYME b, 2018) :**

Tableau III : Composition complète de ZANITRA PLUS®

	Matières premières	**Quantité /gélule**	**Quantité centésimale**	**Quantité/lot**
Principes Actifs	sulfate ferreux anhydre Acide folique	150,0 mg 0,5 mg	39,804% /	102,00 kg /
Excipients	ANNEXE 4			

(ANONYME b, 2018)

III.5.1- Les principes actifs

Tableau IV : Les principes actifs du ZANITRA PLUS®.

	Sulfate ferreux	**Acide folique**
formule chimique	**$FeSO_4H_2O$ (ANONYME, 2008).**	**$C_{19}H_{19}N_9O_6$ (ANONYME, 2008).**
Synonymes	-Vitriol de fer, proto-sulfate de fer, ferranyl, feosol, irrosul, sorbifer, reso- feron, biotonetten, onetten **(MANUILA., 1981).**	-Folacine ; Vitamine B9, Vitamine M, acide pétroglutamique, facteurs antipernicieux, speciafolin(marque déposée) **(DORVAUL, 1982).**
Caractères	- Poudre cristalline verte claire ou Cristaux vert bleuâtre - Très soluble dans l'eau, pratiquement insoluble dans l'alcool et s'oxyde à l'air - Par chauffage le sulfate ferreux se transforme en sulfate ferrique (la forme active) **(ANONYME, 2008).**	- Poudre cristalline, jaunâtre ou orangée Insoluble dans l'eau et dans la plus part des solvants organiques - Se dissout dans les acides dilués et dans les solutions alcalines **(ANONYME, 2008).** - Sa forme active est l'acide tétrahydrofolique (THF) ou l'acide folinique **(ANONYME, 2002).**
Sources	- Les haricots, les huîtres, blé, mais, foie abats, etc. **(CHAPUIS, 1994).**	Les légumes à feuilles sombres (épinard), les pommes de terre, les germes de blé, le foie, les reins, le fromage, etc. **(BERKOWITZ., 1983).**

Rôle	-Il est utilisé pour lutter contre certaines anémies (microcytaire, hypochrome) car le fer intervient dans la synthèse de l'hémoglobine **(LULLMAN., 1998).** - Mais aussi c'est un excellent astringent à l'extérieur, on l'emploi en injections, lotions, collyres, etc., contre les hémorragies, les écoulements muqueux les ulcères rebelles etc. **(DORVAUL, 1982).**	- Il joue un rôle essentiel dans la production du matériel génétique (ADN, ARN) et des acides aminés nécessaires à la croissance cellulaire **(MOULIN, 1998).** - Un rôle important dans la formation des globules rouges, le fonctionnement du système immunitaire ainsi que dans la cicatrisation des blessures et des Plaies **(MOULIN, 1998).** -Il est nécessaires à la production des nouvelles cellules ce qui le rend particulièrement important durant les périodes de croissance rapide comme l'enfance, l'adolescence, la grossesse **(MOULIN, 1998)**
Carence	- Une altération de l'érythropoïèse due à la perturbation de la synthèse de l'hémoglobine (anémie microcytaire, hypochrome) **(BERKOWITZ., 1983).**	- Une altération de l'érythropoïèse due à l'inhibition de la multiplication cellulaire liée a une synthèse d'ADN Insuffisante (anémie macrocytaire, hyperchrome) **(BERKOWITZ., 1983).**

Besoins	- Chez la femme enceinte demande augment un apport globale de (750 à 900) mg de fer couvre les besoins crées par l'augmentation physiologique du volume globulaire maternel (500 à 600) mg et (200 à 250) mg pour un fœtus de poids moyen, 50 mg pour le placenta et le cordon **(BERKOWITZ., 1983).**	- Pendant la grossesse, les besoins maternels et fœtaux augmentent nettement et atteignent 500 µg/ jour pour une grossesse normale 1 mg/ jour pour une grossesse gémellaire, l'acide folique est utilisé à la dose journalière de 1 mg dans le traitement des anémies par carence **(BERKOWITZ., 1983).**
Conservation	En récipient bien fermé, à l'abri de la lumière **(ANONYME, 2008).**	En récipient bien fermé, à l'abri de la lumière **(ANONYME, 2008).**

III.6- Propriétés des principes actifs

III.6.1- L'acide folique

III.6.1.1- Pharmacodynamique

L'acide folique est une vitamine du groupe B. Les métabolites actifs servent de coenzymes à de nombreuses réactions enzymatiques intervenant dans la synthèse des purines, le métabolisme des acides aminés **(ANONYME, 2005).**

III.6.1.2 - Pharmacocinétique

III.6.1.2.a - Absorption digestive

L'acide folique est rapidement absorbé (5 à 20 minutes), le pic sérique est observé 1 à 2 heures après l'absorption **(ANONYME, 2005).**

III.6.1.2.b - Distribution tissulaire

Il diffuse dans tous les tissus et les liquides de l'organisme, il se concentre dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) est stocké dans le foie.

Le taux sérique moyen est de 5 à 12 mg/ml **(ANONYME, 2005).**

III.6.1.2.c - Métabolisme (Figure 4)

Les formes réduites, indispensables à l'activité biologique, sont l'acide dihydrofolique ou dihydrofolate (DHF) et l'acide tétrahydrofolique ou tétrahydrofolate (THF) provenant d'une réduction par fixation d'atomes d'hydrogène **(Figure 3), (LULLMAN., 1998).**

Acide folique

$\downarrow +H_2$

Acide dihydrofolique

$\downarrow +H_2$

Acide tétrahydrofolique

Figure 3 : Les formes réduites de l'acide folique ***(LULLMAN., 1998).***

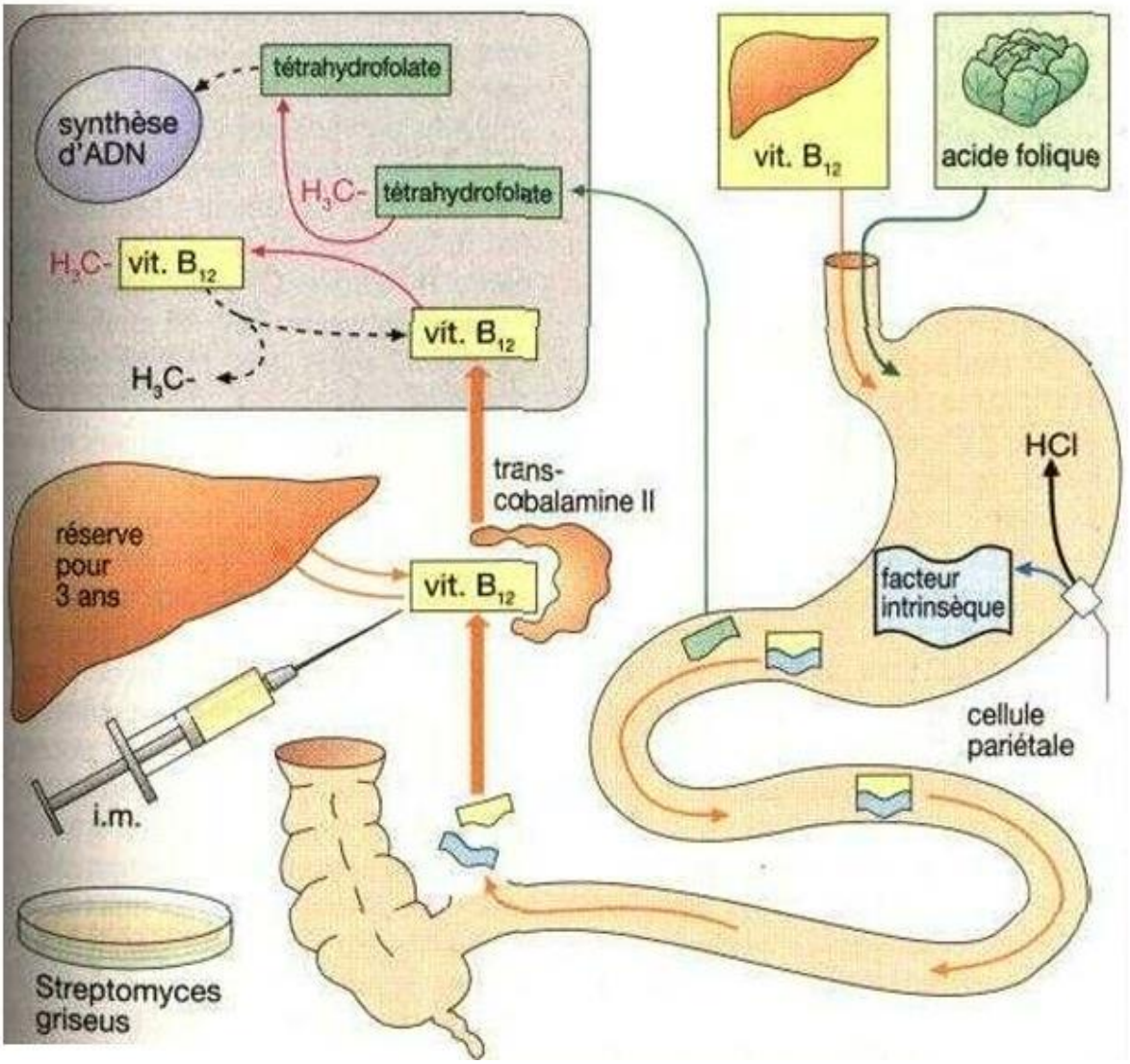


Figure 4 : Métabolisme de l'acide folique ***(LULLMAN.,1998).***

III.6.1.2.d - Élimination

Elle est urinaire et fécale.

III.6.2- Le fer

III.6.2.1- Pharmacodynamique

Le fer est un constituant essentiel de l'organisme ; il est nécessaire à la formation de l'hémoglobine aux processus d'oxydation des tissus vivants **(ANONYME, 2005).**

III.6.1- Pharmacocinétique

III.6.2.a- Absorption digestive

L'absorption se fait dans la partie initiale du tube digestif, au niveau du duodénum et du jéjunum **(ANONYME, 2005).**

III.6.2.b- Distribution

- **Sang, plasma, sécrétion**

La concentration de fer dans le sang est très élevée, environ 300 à 500 mg/L, dont plus de 90% dans l'hémoglobine des hématies.

Le plasma contient environ 1 mg/L de fer (normes : 0,75 à 1,5 mg/L chez l'homme) lié à la transferrine ; il n'y a pas de fer libre circulant **(ANONYME, 2005).**

Dans le lait et diverses sécrétions, salive, larmes, sécrétions bronchiques, intestinales et génitales, on trouve la lactoferrine **(ANONYME, 2005).**

- **Tissus**

Le fer est fixé à l'intérieur de la cellule par une protéine appelée la ferritine **(ANONYME, 2005).**

III.6.2.c – Métabolisme (Figure 5)

La biodisponibilité du fer dépend des formes sous lesquelles il est présent :

- Le fer héminique, comme dans les viandes, sa biodisponibilité élevée environ 40%
- Le fer non héminique qui l'on trouve, par exemple dans les végétaux. Sa biodisponibilité comprise entre 2 et 10 %

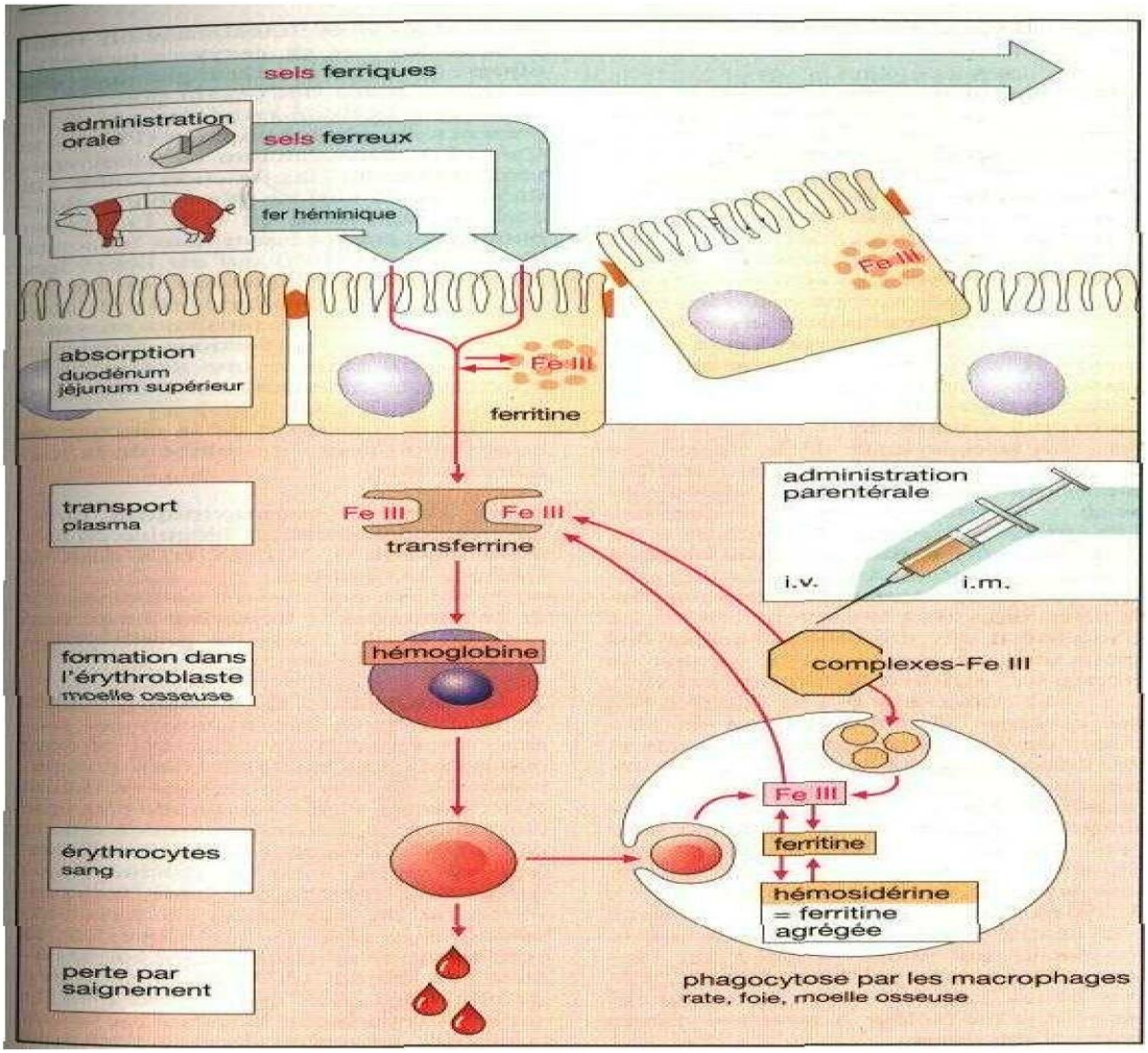


Figure 5 : Métabolisme du fer **(LULLMAN., 1998).**

III.6.2.d - Elimination

Les pertes physiologiques journalières de fer sont d'environ 1,5 mg/L, essentiellement digestives par les selles. L'élimination urinaire ainsi que l'élimination desquamative de la peau et des muqueuses sont très faibles **(ANONYME, 2005).**

III.7- Indications et posologies du ZANITRA PLUS®

III.7.1- Indications

ZANITRA PLUS® est indiqué pendant la grossesse, pour prévenir des carences en fer et en acide folique lorsque l'alimentation ne permet pas d'apporter une quantité suffisante de ces éléments **(ANONYME a, 2018).**

III.7.2- Posologie

Une gélule par jour pendant les deux derniers mois de la grossesse **(ANONYME a, 2018).**

III.8- Effets indésirables

Comme tout produit actif, ce médicament peut, chez certaines personnes, entrainer des effets plus au moins gênants : troubles gastro-intestinaux ; nausées et vomissements.

La coloration des selles en noir est normale avec ce médicament **(ANONYME a, 2018).**

III.9- Mise en garde et précaution d'emploi

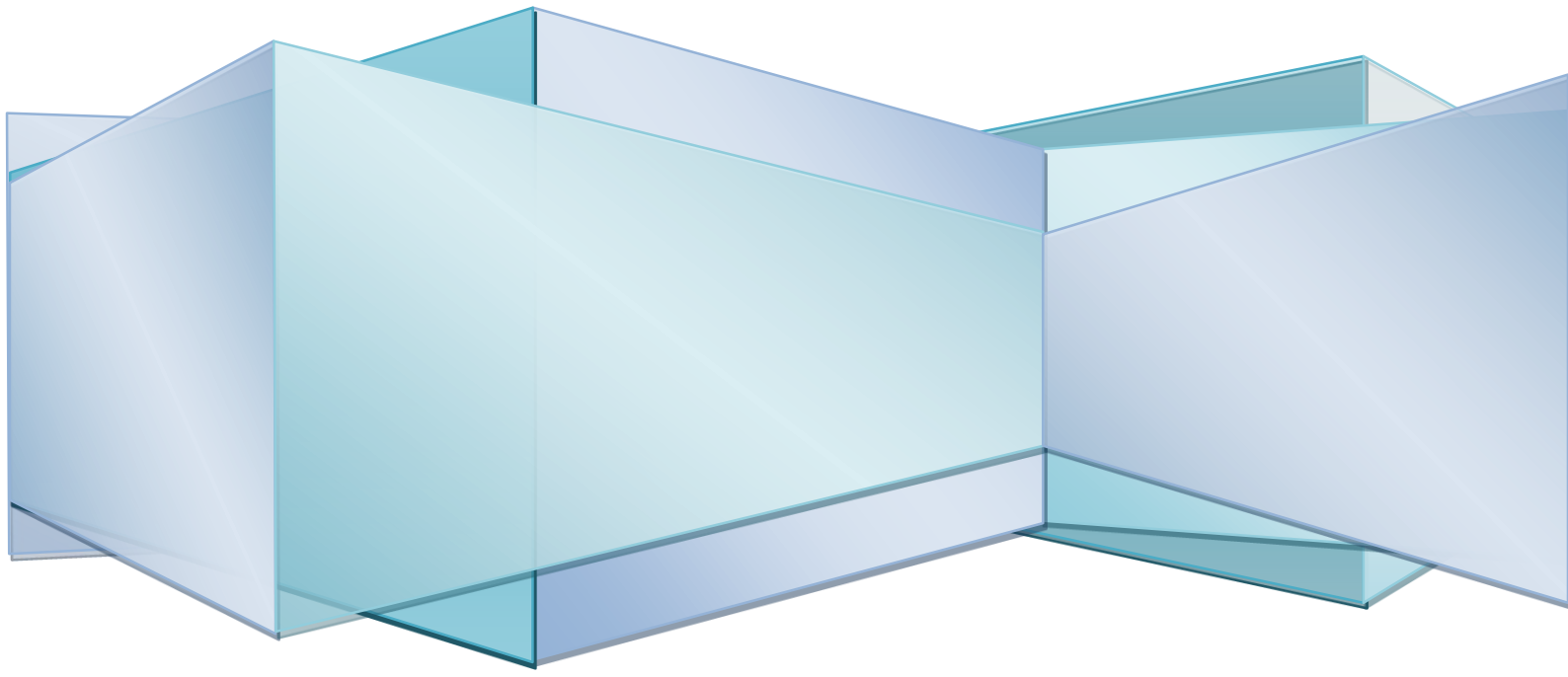
La consommation importante de thé inhibe l'absorption du fer. Il est conseillé de ne pas prendre ce médicament en même temps que cette boisson **(ANONYME a, 2018).**

III-10 Interactions médicamenteuses et autres interactions

Afin d'éviter d'éventuelles interactions entre plusieurs médicaments, notamment les sels de fer par voie injectable, il faut signaler systématiquement tout autre traitement en cours à votre médecin ou à votre pharmacien **(ANONYME a, 2018).**

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et méthodes



Le but de notre travail consiste à la vérification de la conformité de notre produit « ZANITRA PLUS® » avec les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (ANONYME), du point de vue physico-chimique, microbiologique et toxicologique.

I.1. Matériel

❖ Matériel biologique

✓ Produit à analyser :

- Gélules vides.
- Echantillon : ZAN1TRA gélule à 150-0.5 mg.
  - Dose : 375 mg/ kg sulfate ferreux et 1.25 mg/ kg d'acide folique.

✓ Animaux :

- Souris Albinos.
- Nombre : 15 (5/ lot).
- Poids : 17 - 22 g.
- Sexe : mâle ou femelle.
- Boisson : eau de ville.
- conditions d'hébergement : - Température 20 - 24°C.
  - Humidité : 50 ± 10 %.
  - Eclairage : 10 heures.

❖ Matériels non biologique

✓ Verreries et autres

Il s'agit du matériel de routine utilisé dans les laboratoires de contrôle physicochimique, microbiologique et toxicologique **(ANNEXE 1).**

✓ Appareillage

Il s'agit d'appareillage de routine utilisé dans les laboratoires de contrôle physicochimique, microbiologique et toxicologique **(ANNEXE 1).**

- ✓ **Milieux de culture**

Les milieux de culture utilisés lors du contrôle microbiologiques sont :

1. Solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH=7,0,
2. Milieu liquide lactosé,
3. Bouillon aux peptones de caséine et de soja (BCS),
4. Milieu Agar aux peptones de caséine et de soja (CS),
5. Milieu gélosé sabouraud- glucosé avec chloramphénicol (ATB),
6. Milieu gélosé de Mac-Conkey,
7. milieu liquide de Mac-Conkey,
8. Milieu Agar agar au xylose à la lysine et au desoxycholate (XLD),
9. Milieu Agar selon Vojel-Johnson,
10. Milieu liquide au tétrathionate au vert brillant et à la bile (TBG),
11. Milieu gélosé au vert brillant-rouge de phénol -lactose-saccharose (BPLS),
12. Bouillon Mossel,

Pour la composition des milieux de culture, voir **(ANNEXE 2).**

- ✓ **Echantillonnage**

Afin de mener à bien l'opération et pour s'assurer de la qualité des analyses, il faut que l'échantillonnage doit être représentatif, effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuse pour éviter toute source de contamination :

- Veiller à la représentativité de l'échantillon à analyser plus particulièrement les gélules vides et le produit fini.

- Les prélèvements ont été faits après homogénéisation : en surface, en profondeur et sur les côtés.

- Subdiviser le prélèvement en deux conteneurs, l'un à utiliser pour les analyses et l'autre à archiver en tant qu'échantillon en cas de contamination.

- Bien fermer l'emballage à l'aide d'un ruban adhésif après avoir terminé le prélèvement des échantillons.

- Etiquetage des échantillons prélevés qui doit comporter toutes les informations nécessaires pour avoir une bonne exploitation des résultats de l'analyse (la date de prélèvement, le numéro de lot et la date de fabrication) **(Tableau V).**

- Pour les gélules vides : on prélève 100g.

- Pour chaque lot du produit fini : on prélève 06 boites du produit fini pour le contrôle microbiologique et 03 boites pour le contrôle physico-chimique.

Tableau V : Présentations des échantillons.

Matières	Date de prélèvement	N° de lot	Date de fabrication
Gélules vides	06/05/18	20009616	03/2016
Produit fini	06/05/18	101-102-103	05/2017

I.2. Méthodes

I.2.1. Contrôles physicochimiques

On va réaliser le contrôle physicochimique des gélules vides et du produit fini.

But : S'assurer que les gélules vides et le produit fini gélules sont conformes aux normes sur le plan physicochimique.

Les procédures utilisées et les normes à suivre, concernant cette partie de contrôle sont inspirées à partir de la Pharmacopée Européenne (2008), tel que pratiqué au niveau de l'unité SAIDAL, lieu de notre expérimentation.

I.2.1.1. Contrôle physicochimique des gélules vides

Ce contrôle comporte les analyses suivantes :

- **a -** Caractères.
- **b -** Identification de la gélatine.
- **c -** Identification du dioxyde de titane.
- **d -** Odeur.
- **e -** Poids moyen.
- **f -** Perte a la dessiccation.
- **g -** Temps de désagrégation.
- **h -** Arsenic.
- **i -** Métaux lourds.
- **j -** Lubrifiants.
- **k -** L'anhydride sulfureux.
- **l -** Cendres sulfuriques.

a - Caractères

Principe : Tout contrôle de matière première devrait débuter par une reconnaissance du produit, c'est-à-dire par l'observation de ses caractères organoleptiques, il s'agit d'une première approche qui peut être très pertinente en cas d'erreur de produit ou d'anomalie grossière **(PRADEAU, 1992).**

Mode opératoire

Ce test consiste à comparer les gélules vides (essai) par rapport à un spécimen à l'œil nu et à travers une lumière blanche naturelle à une distance de 25 cm.

Norme

- Les deux gélules doivent être identiques.
- Pour les gélules imprimées :

* On compare l'impression du logo « SAIDAL» figurant sur la tête de la gélule en gélatine vide (essai) et du texte sur le corps « nom du produit et le dosage (s'il existe) » par rapport au spécimen.

* On vérifie la couleur et l'orientation de l'impression sur l'essai par rapport au spécimen, elles doivent être identiques.

b - Identification de la gélatine

La gélatine est une matière de nature protéique résultant de l'hydrolyse acide partielle ou alcaline partielle du collagène animal**.**

Mode opératoire

- On fait bouillir une gélule vide dans 20 ml d'eau,
- On centrifuge après refroidissement,
- A 5 ml du liquide surnageant, on ajoute 1 ml d'acide tannique,
- A 5 ml d'un deuxième liquide surnageant, on ajoute 1 ml d'une solution d'acide picrique,

Norme

- Un précipité apparaît dans les deux cas.

c - Identification du dioxyde de titane

Mode opératoire

- On prend 5 g de morceaux de gélules vides dans un creuset, on ajoute 1ml de l'acide sulfurique et les déminéralise,
- On le chauffe à 500 - 600 °C jusqu'à obtention d'une masse blanche,
- On le laisse refroidir,
- On dissout la masse blanche dans de l'acide sulfurique,
- On mélange la solution jusqu'à disparition complète du dioxyde de soufre,
- On ajoute du peroxyde d'hydrogène.

Norme La présence du dioxyde de titane est indiquée par l'apparition d'une coloration jaune orangée.

d - Odeur

Mode opératoire

- On met 100 gélules vides dans un flacon en verre étanche pendant 24 heures à une température comprise entre 30 et 40°C.

Norme

- Les gélules vides ne doivent développer aucune odeur étrangère (autre que l'odeur des gélules elles même).

e - Poids moyen

Principe : Le calcul de la masse moyen permet de vérifier l'accord entre la valeur de la masse réelle de la gélule et sa valeur théorique, l'essai qui sert à vérifier l'uniformité de masse consiste à peser individuellement 20 gélules prélevées au hasard.

Mode opératoire

- On Pèse 100 gélules en gélatine vide et on prend la moyenne en subdivisant le poids trouvé par 100.

Norme :

- Le poids moyen des gélules en gélatine vides doit être à ±7 % du poids théorique comme il est démontré dans le tableau VI

Tableau VI : Normes exigées des poids moyens

Taille	**Poids moyen toléré des 100** gélules **en gélatine vide en mg**	**Poids théorique en mg**
00	110,7-127,3	119
0 el	96,7-111,3	104
0	89,3-102,7	96
1	70,7-81,3	76
2	58,6-67,4	63
3	46,5-53,5	50
4	35,3-40,7	38
5	26,0-30,0	28

(ANONYME, 2008)

f - Perte à la dessiccation

La perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage.

Principe : placer la quantité prescrite de la substance dans un flacon a tare, desséché lui-même au préalable dans les conditions précisées pour la substance. La dessiccation de la substance à examiner se fait jusqu'à masse constante ou pendant la durée prescrite.

Mode opératoire

- On met dans le dessiccateur une gélule vide en verre puis on la pèse,
- On remplit la même gélule par 1,0g de gélules vides et puis on la sèche dans l'étuve à 105 °C ± 2°C pendant 4 heures,
- On met la gélule dans le dessiccateur pendant 15 à 20mn,
- On fait une pesée finale,

Expression des résultats

Le pourcentage de la perte en eau :

$$\% = \frac{(P1+P2)-P3}{P2} \times 100$$

P1 : poids de la gélule vide.

P2 : poids de l'essai (gélules vides).

P3 : poids final.

Norme

- Le pourcentage doit être compris entre 13,0 % et 16,0%.

g - Temps de désagrégation

Principe : Le temps de désagrégation est la mesure de l'aptitude de la gélule à se désagréger en milieu liquide dans un temps prescrit **(PRADEAU, 1992).**

Mode opératoire :

Pour déterminer le temps de délitement on procède par un test de désagrégation qui consiste à étudier la première phase de libération du principe actif :

- On va remplir le bécher en verre de 800 ml d'HCl 0,1N,
- On règle la température à 37°C ± 2°C et en met le système en marche,
- On introduit dans chacun des tubes du panier une gélule a testé,

Remarque : il ne subsiste sur la grille que des fragments d'enveloppe qui peuvent éventuellement adhérer à la phase inferieure du disque en cas d'utilisation des gélules.

Norme

- Le temps de désagrégation doit être ≤ 15 mn.

h - Arsenic

On a utilisé dans ce test la méthode A 2.4, décrite par la Pharmacopée Européenne **(ANONYME 2008).**

Mode opératoire

- On pèse 1 g de gélule vide dans un Creuset puis on ajoute 1 ml d'eau et 1g de carbonate de sodium anhydre.
- On met le creuset au bain marie jusqu'à l'obtention d'une masse gélatineuse,
- On ajoute 1 g de carbonate de sodium,
- On le Calcine à 600°C ± 50 °C jusqu'à l'obtention d'une masse blanche,
- On le laisse refroidir, puis on dissout le contenu du creuset dans 15 ml d'HCl,
- On le filtre puis on transfère le filtrat dans une fiole conique,
- On rince le creuset à l'eau puis on filtre,
- On complète à 25 ml à l'eau distillée,
- On prépare le témoin de la même manière que l'essai en utilisant 1 ml d'arsenic (1ppm) diluer dans 25 ml d'eau,
- On ajoute 15 ml d'HCl, 5 ml de chlorure staneux et 5 ml d'iodure de potassium,
- On laisse reposer 15m puis on introduit 5 g de Zinc activé,
- On met les fioles coniques dans un récipient remplie d'eau,

Norme

- Après 2 heures au moins, la tache obtenue sur le disque de l'essai, n'est pas plus foncée que celle obtenue sur le disque du témoin.

i - Métaux lourds

On a utilisé dans ce test le procédé D, décrit par la Pharmacopée Européenne **(ANONYME 2008).**

Principe : Les métaux lourds précipités sous la forme de sulfate noir par addition d'une solution d'acide sulfhydrique (H_2SO_4), un essai témoin est conduit parallèlement à partir d'une solution de plomb renfermant la quantité maximale tolérée dans la prise d'essai **(LESPAGNOL, 1979).**

Mode opératoire

❖ **Préparation de la solution essai**

- Dans un creuset de silice, on va introduire 0,4 g de gélules, on la mélange intimement à 0,5 g d'oxyde de magnésium R1, on calcine au rouge sombre jusqu'à obtention d'une masse blanche à blanc-gris homogène, si après 30 minutes de calcination, le mélange reste coloré, on le laisse refroidir, on mélange â l'aide d'une fine baguette de verre et on calcine à nouveau,
- On recommence éventuellement l'opération, on chauffe à 800 ° C pendant 1h environ,

- On reprend le résidu à 2 reprises avec 5 ml d'un mélange à volumes égaux d'acide chlorhydrique R1 et d'eau R, on ajoute 0,1 ml de solution de phénolphtaléine R, puis de l'ammonium concentrée R jusqu'à coloration rose, on laisse refroidir, on ajoute de l'acide acétique glacial R jusqu'à décoloration, puis on ajoute 0.5 ml en excès si nécessaire.
- On filtre, on lave le filtre et on complète à 20 ml avec de l'eau R,
- A l2 ml de la solution obtenue, on ajoute 2 ml de solution tampon pH 3,5 R, on mélange et on ajoute 12 ml de réactif thioacétamide R,

❖ **Préparation de la solution témoin**

- On prépare le témoin en ajoutant 2 ml de solution à 10 ppm de plomb (Pb) R à 0.5 g d'oxyde de magnésium R1,
- On sèche à l'étuve à 100-105 °C, dans les mêmes conditions que celles décrites pour l'essai on procède à la calcination.
- La reprise chlorhydrique, à l'addition d'ammoniaque, puis à celle d'acide acétique, on complète à 20 ml avec de l'eau R,
- On prélève 10 ml des 20 ml obtenus, on ajoute 2ml du standard, 2 ml de la solution tampon ph 3,5 R, on mélange et on ajoute à 1.2 ml de réactif thioacétamide R ensuite on mélange immédiatement,

❖ **Préparation de l'essai à blanc**

- On prépare également un essai à blanc, en utilisant un mélange de 10 ml d'eau R et de 2 ml de la solution essai,

Norme

- Le témoin comparé à l'essai a blanc, doit montrer une légère coloration brune.
- Après 2 min, la coloration brune éventuelle de la solution obtenue à partir de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin.

g - Lubrifiant

Mode opératoire :

- On ouvre à peu près 12 g de gélules vides,
- On met 10,0 g de gélule dans 50 ml de chlorure de méthylène et en agitant pendant 5 mn,
- On filtre le chlorure de méthylène
- On l'extrait à chaque fois à travers un filtre précédemment lavé deux fois avec 20 ml de chlorure de méthylène.
- On transfère l'extrait du filtrat dans un flacon taré, on re-extrait les gélules en répétant

l'opération une fois encore avec 50 ml de chlorure méthylène,

- On combine les deux extraits de chlorure de méthylène (mélange),
- On évapore le mélange au bain marie, on le met au dessiccateur ensuite on le pèse,
- On exécute un blanc en portant les mêmes étapes que pour l'essai mais en omettant les morceaux de gélules en gélatine,

Expression des résultats

Le pourcentage du taux de lubrifiant : $$(\%) = \frac{(P2-P3)}{P1} \times 100$$

P1 : poids des morceaux de gélules

P2 : poids du flacon vide

P3 : pesée finale

Norme

- Le poids du résidu doit être < à 0,5 mg.

k - L'anhydride sulfureux

Mode opératoire

- Dans un Erlen, on introduit 20 gélules de poids total exactement connu, on les dissout en chauffant au bain marie à l'aide de 10 ml de solution normal de NaOH, on laisse refroidir puis on ajoute environ 30m1 d'eau.
- On ajoute de l'acide chlorhydrique dilué à 50% pour amener la solution à un pH très acide,
- On ajoute 10ml exactement mesurée de solution d'iode 0,01N et on titre l'excès d'iode à l'aide d'une solution thiosulfate de sodium 0,01 N en présence d'empois d'amidon.

Expressions des résultats

La teneur en anhydride sulfureux de l'échantillon analysée en g pour 1000g de gélule : $$(\%) = \frac{0{,}32 \times (10 - n)}{p(g)} \times 100$$

n : le nombre de ml de solution de thiosulfate de sodium 0,01N utilisées.

***p(g)* :** poids total des gélules.

1ml de solution consommé correspond à 0,00032g d'anhydride sulfureux.

Norme

-La teneur en anhydride sulfureux ne devra pas être > à 1%.

l - Cendres sulfuriques

Il s'agit d'une détermination très générale qui permet de mettre en évidence globalement la présence d'impureté minérale ; les cendres peuvent être obtenus par simple calcination au four a moufle à 600 ± 50°C jusqu'à poids constant **(LESPAGNOL, 1974).**

Mode opératoire

- On va chauffer un creuset en platine ou en silice, on le laisse refroidir dans le dessiccateur sur du gel de silice ensuite on le pèse,
- On introduit dans ce creuset la prise d'essai qui est de 2 g de gélules et on le pèse,
- On les chauffes doucement jusqu'à carbonisation complète de l'échantillon, on le laisse refroidir ensuite on humecte avec 2 à 3 ml d'acide sulfurique dilué,
- On le chauffe doucement jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches puis on fait la calcination à 500°C ± 25°C jusqu'à incinération complète du résidu.
- On le laisse refroidir dans le dessiccateur, on pèse à nouveau et on calcule la masse du résidu,

Expressions des résultats

Le taux des cendres sulfuriques : $$(\%) = \frac{P3-P1}{P2}$$

P1 : poids du creuset vide

P2 : prise d'essai

P3 : poids final du creuset

Norme

- Le taux des cendres sulfuriques ne devra pas être > à 9%.
- Si la masse du résidu ainsi obtenu dépasse la limite indiquée, poursuivre la calcination comme précédemment jusqu'à obtention d'une masse constante.

I.2.1.2 - Contrôle physicochimique du produit fini

Ce contrôle comporte les analyses suivantes :

a - Caractères organoleptiques.

b - Poids moyen.

c - Poids moyen net.

d - Uniformité de masse.

e - Identification :

e.1 - Identification des sulfates ferreux.

e.2 - Identification de l'Acide folique.

f - Test de dissolution.

g - Dosage des principes actifs :

g.1 - Dosage du sulfate ferreux.

g.2 - Dosage de l'Acide folique.

h - Calculs.

a - Caractères organoleptiques

Principe : (Voir contrôle physicochimique des gélules vides)

Mode opératoire

Ce test consiste à vérifier si les gélules remplies du produit pellets à corps transparent portant l'inscription ZANITRA plus® de couleur grise et la tête rouge opaque portant le logos SAIDAL de couleur blanche remplies de pellets rouges bruns, jaunes et blancs.

Norme

- Gélules à corps transparent portant l'inscription ZANITRA plus® de couleur grise et la tête rouge opaque portant le logos SAIDAL de couleur blanche remplies de pellets rouges bruns, jaunes et blancs.

b - Poids moyen

Principe : Le calcul de la masse moyenne permet de vérifier l'accord entre la valeur de la masse réelle de gélule et sa valeur théorique, l'essai qui sert à vérifier l'uniformité de masse consiste à peser individuellement 20 gélules prélevées au hasard.

Expression des résultats

Le poids moyen : $\boldsymbol{P_M = P_R / N}$

$\boldsymbol{P_R}$ **:** Poids des 20 gélules pleines**.**

$\boldsymbol{N}$ **:** nombre de gélules pesées.

Norme :

- La valeur théorique est égale à 515mg ± 3 %.
- La valeur de la masse moyenne doit être comprise entre 499 mg et 530 mg.

c - Poids moyen net

Mode opératoire

- On va peser 20 gélules pleines et on détermine leur poids moyen,

- On prend une gélule, on enregistre son poids, on ouvre la gélule, on la vide en évitant les pertes, on va la nettoyer, la refermer et la peser, le poids du contenu est égal à la différence des poids,
- On répète l'opération pour les 19 gélules restantes,
- On pèse les 20 gélules vides obtenues et on enregistre le résultat,

Expression des résultats

Le poids net : $$P_N = P_R - P_V$$

P_R **:** Poids des 20 gélules pleines**.**

P_V **:** Poids des 20 gélules vides.

Le poids moyen net : $$P_{MN} = P_N / \mathrm{N}$$

P_N **:** Poids net.

N **:** nombre de gélules pesées.

Norme

- La valeur théorique est égale à 435 mg ± 3 %.
- La valeur du poids moyen net doit être comprise entre 422 mg et 448 mg.

d - Uniformité de masse

La masse individuelle de 2 au plus des 20 unités peut s'écarter de la masse moyenne de 7,5% du poids moyen net.

e - Identification des principes actifs

e.1 - Identification des sulfates ferreux

Mode opératoire

- Dans un tube à essai, on va dissoudre 50 mg de poudre des pellets dans 10 ml d'HCl à 0,1N, on met le tube au bain marie puis on filtre la solution,

- On ajoute au filtrat 1 ml de solution 0-phenanthroline, une couleur orange intense apparait et qui disparait par addition d'un léger excès de sulfate d'ammonium cerrique 0,1M.

Norme

- Apparition d'une couleur orange intense qui disparait après l'addition du sulfate d'ammonium.

e.2 - Identification de l'Acide folique

Le résultat de dosage de l'acide folique confirme son identification. (Voir page 29)

f - Test de dissolution

Principe : C'est la mesure de la cinétique de dissolution d'un principe actif dans un milieu donné à partir d'une forme galénique **(PRADEAU, 1992).**

Conditions de dissolution

Système : palette

Vitesse : 100 tr/mn

Milieu : 900 ml d'HCl à 0,01 M

Température : 37± 0,5°C

Temps de dissolution : 3 heures

Mode opératoire

❖ **Préparation de la solution standard**

- on prend une prise d'essai exactement pesé de 125 mg de sulfate ferreux dans une fiole de 250 ml, on la dissout dans 25 ml d'HCl dilué puis on complète à 250 ml avec l'eau distillée ; (392,14 mg de sulfate de fer et d'ammonium contient 169,9 mg de sulfate ferreux Monohydrate).

❖ **Préparation de la solution essai :**

- On va Pesez et placez une gélule dans chaque vase de dissolution,
- On procède à la dissolution pendant 3 heures, on prélève une quantité de chaque vase après la 1 ère heure, la 2ème et la 3ème heure puis on filtre.
- On prélève 2 ml de chaque filtrat dans des fioles séparés de 25 ml, on ajoute 5 ml de la solution d'hydroxylamine hydrochloride (10 %) et on laisse les fioles reposer pendant 10 minutes,

- On ajoute 10 ml de tampon Acétate pH 4,5 et on mélange,
- On ajoute 2 ml de la solution d'O-phenanthroline et on laisse reposer pendant 20 minutes,
- On complète ensuite à 25 ml d'eau distillée et on mesure l'absorbance de la solution obtenue à 515 nm.

Expression des résultats

Pour la 1^{ére} heure, la 2ème et la3^{éme} heure de dissolution,

Le taux de sulfate ferreux : $$(\%) = \frac{Abs\ E \times PeT \times 900 \times 169{,}9 \times PM \times pureté}{Abs\ T \times PeE \times 250 \times 2 \times 392{,}14 \times 150}$$

***Abs E* :** Absorbance de l'essai.

***Abs T* :** Absorbance du témoin.

***PeT* :** prise d'essai témoin.

***PeE* :** prise d'essai de l'échantillon.

***PM* :** poids moyen.

Norme

Tableau VII : Normes exigées du Taux de dissolution

	Temps (heure)	**Taux de dissolution**
Tolérance	1	Entre 25 et 60 %
	2	Entre 50 et 80 %
	3	Pas moins de 70 %

(ANONYME, 2008)

g - Dosage des principes actifs par spectrophotométrie UV/ VISIBLE

Principe : Lorsqu' une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). l'intensité I de la lumière transmise est donc inferieur à I_0 .

On définit l'absorbance de la solution comme :

$$A = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I}\right)$$

g.1 - Dosage du sulfate ferreux

Mode opératoire

❖ **Préparation de la solution standard**

- on prend une prise d'essai exactement pesé de 125 mg de sulfate ferreux dans une fiole de 250 ml, on la dissout dans 25 ml d'HCl dilué puis on complète à 250 ml avec l'eau distillée ; (392,14 mg de sulfate de fer et d'ammonium contient 169,9 mg de sulfate ferreux Monohydrate).

❖ **Préparation de la solution essai**

- on va videz 20 gélules les broyés en poudre fine,
- on prend une prise d'essai de 160 mg de poudre fine exactement pesé (équivalente à 55 mg de sulfate ferreux) dans une fiole de 250 ml, on ajouter 25 ml d'HCI et 50 ml d'eau distillée et on agite,
- on maintien la solution au bain marie pendant 1 heure, on la laisse refroidir et on
- complète à 250 ml avec de l'eau,
- On filtre et on utilise le filtrat pour le développement colorimétrique.

❖ **Procédure : Développement colorimétrique**

- On prend 3 fioles de 25 ml pour le blanc, l'essai et le témoin :

Tableau VIII : Procédé de développement colorimétrique

Réactifs/solutions	Blanc	Essai	Témoin
Solution témoin	-	-	1 ml
Solution essai	-	1 ml	-
Hydroxylamine HCl (10%)	5 ml	5 ml	5 ml
On laisse reposer pendant 10 minutes			

Tampon acétate pH 4,5	10 ml	10 ml	10 ml
Solution 0-phenantroline (0,25%)	2 ml	2 ml	2 ml
On laisse reposer pendant 20 minutes et on complète à 25 ml avec l'eau. On règle l'appareil par rapport au blanc ensuite on mesure l'absorbance à 515 nm.			

(ANONYME, 2008)

Expression des résultats

Le dosage du sulfate ferreux est évalué par la relation suivante :

$$Dosage = \frac{Abs\ E \times PeT \times 169{,}9 \times PM\ net \times pureté\ du\ témoin}{Abs\ T \times PeE \times 392{,}14}\ (mg)$$

Abs E : Absorbance de l'essai.

Abs T : Absorbance du témoin.

PeT : prise d'essai témoin.

PeE : prise d'essai de l'échantillon.

PM net : poids moyen net.

Norme

- La valeur du dosage doit être comprise entre 135 mg et 187,5 mg.

g. 2 - Dosage de l'Acide folique

Mode opératoire

❖ **Préparation de la solution standard**

- On va prendre une prise d'essai exactement pesé de 100 mg d'acide folique SCR dans une fiole de 100 ml, on ajoute 50 ml de la solution d'hydrogeno orthophosphate dipotassique 3% (p/v),on agite et on complète à 100 ml avec la même solution,
- On prélève 5 ml de la solution résultante dans une fiole de 50 ml et on complète au trait de jauge avec la solution hydrogeno orthophosphate dipotassique 3%,

- De cette dernière solution, on fait une autre dilution de 5/50 ml avec la solution de dipotassium hydrogénophosphate.

❖ **Préparation de la solution essai**

- On va prendre une prise d'essai exactement pesée l'équivalent de 10 mg du contenu de 20 gélules (sans broyer) dans une fiole de 100 ml, on ajouter 50 ml de la solution d'hydrogeno orthophosphate dipotassique 3%, on agite immédiatement pendant 1 minute puis on complète à 100 ml avec la même solution,
- On mélange et on filtre immédiatement,

❖ On prélève 5 ml de la solution résultante dans une fiole de 50 ml et on complète au trais de jauge avec la solution d'hydrogeno orthophosphate dipotassique 3% (p/v).

❖ **Procédure : Développement colorimétrique**

- On prend 5 fioles de 25 ml pour l'essai HC1 blanc, essai blanc, témoin blanc, témoin et essai :

Tableau IX : Procédé de développement colorimétrique selon la Pharmacopée Européenne

Réactif / solutions	**Essai blanc HCl**	**Témoin blanc**	**Essai blanc**	**Témoin**	**Essai**
Solution témoin	-	5ml	-	5m1	-
Solution essai	5ml	-	5ml	-	5 ml
Solut.KmnO4 (1g/250 ml d'eau)	-	-	-	2m1	2 ml
On laisse reposer pendant 3 minutes					
Solution nitrite de sodium NaNO2 (1 dans50)	-	1ml	1ml	1ml	ml
Acide hydrochlorique (6M) (51ml/ 100ml. v/v)	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5ml
On laisse reposer pendant 2 minutes					
Solution sulfamate d'ammonium 1g/20ml (p/v)	-	1ml	1ml	1ml	1ml
On mélange jusqu'à disparition total de l'Azote (effervescences)					

N-lnaphthylene-diamine dihydrochloride (0,1%)	-	1ml	1ml	1ml	1ml
On laisse reposer pendant 20 min, on complète à 25 ml avec l'eau distillée et n mélange. On mesure l'absorbance à 550 nm en utilisant l'eau comme blanc pour régler l'appareil et on calcule le résultat par comparaison.					

(ANOYME, 2008)

Expression des résultats

Abs essai = Abs de l'essai - (Abs essai blanc – Abs HCl blanc)

Abs témoin = Abs témoin - Abs témoin blanc

Le dosage de l'acide folique est évalué par la relation suivante :

$$Dosage = \frac{Abs\ E \times PeT \times 5 \times 5 \times 100 \times 50 \times PM\ net \times pureté\ du\ témoin}{Abs\ T \times 100 \times 50 \times 50 \times PeE \times 392.14 \times 150}\ (mg)$$

Abs E : Absorbance de l'essai.

Abs T : Absorbance du témoin.

PeT : prise d'essai témoin.

PeE : prise d'essai de l'échantillon.

PM net : poids moyen net.

Norme

- La valeur du dosage doit être comprise entre 0,45 mg et 0,75 mg.

I.2.2. Contrôles microbiologiques des gélules produit fini (ZANITRA plus®)

On veut s'assurer que le produit fini gélules est conforme aux normes sur le plan microbiologique. Les procédures utilisées et les normes à suivre concernant cette partie de contrôle sont inspirées à partir de la Pharmacopée Européenne (2008) tel que pratiqué au niveau de l'unité SAIDAL, lieu de notre expérimentation.

- **Méthodes**

On va réaliser le contrôle de pureté microbienne du produit fini par :

- Le dénombrement des germes aérobies viables totaux.

- La recherche de micro-organismes spécifiés : Entérobactéries, *Escherichia coli*, Salmonelles, *Staphylococcus aureus*.

I.2.2.1. Dénombrement des germes viables totaux

- **Préparation de l'échantillon**

- On pèse 10 g de gélules, à partir d'un mélange moyen des échantillons prélevés selon le plan d'échantillonnage, et on les dilue dans 90 ml de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7.0 contenant de tween,
- On homogénéise pour obtenir l'homogénéisât A,
- On effectue deux autres dilutions au 1/10, à partir de la première dilution, dans la même solution tampon.

- **Ensemencement (Figures 6 - 7)**

- On utilise des boites de Pétri d'un diamètre de 90 mm,
- On introduit dans chacune d'elle 1 ml de la dilution préparée de l'échantillon à contrôler, on ajoute 15 à 20 ml (à une température entre [35°C et 45°C]) d'un milieu gélosé aux peptones de caséines et de soja liquéfie pour les bactéries, et 15 à 20 ml (à une température ne dépassant pas 45°C) d'un milieu gélosé sabouraud-glucose avec anti bactérien liquéfie pour les levures et moisissures,
- On prépare au moins deux boites de pétri par dilution et par milieu,

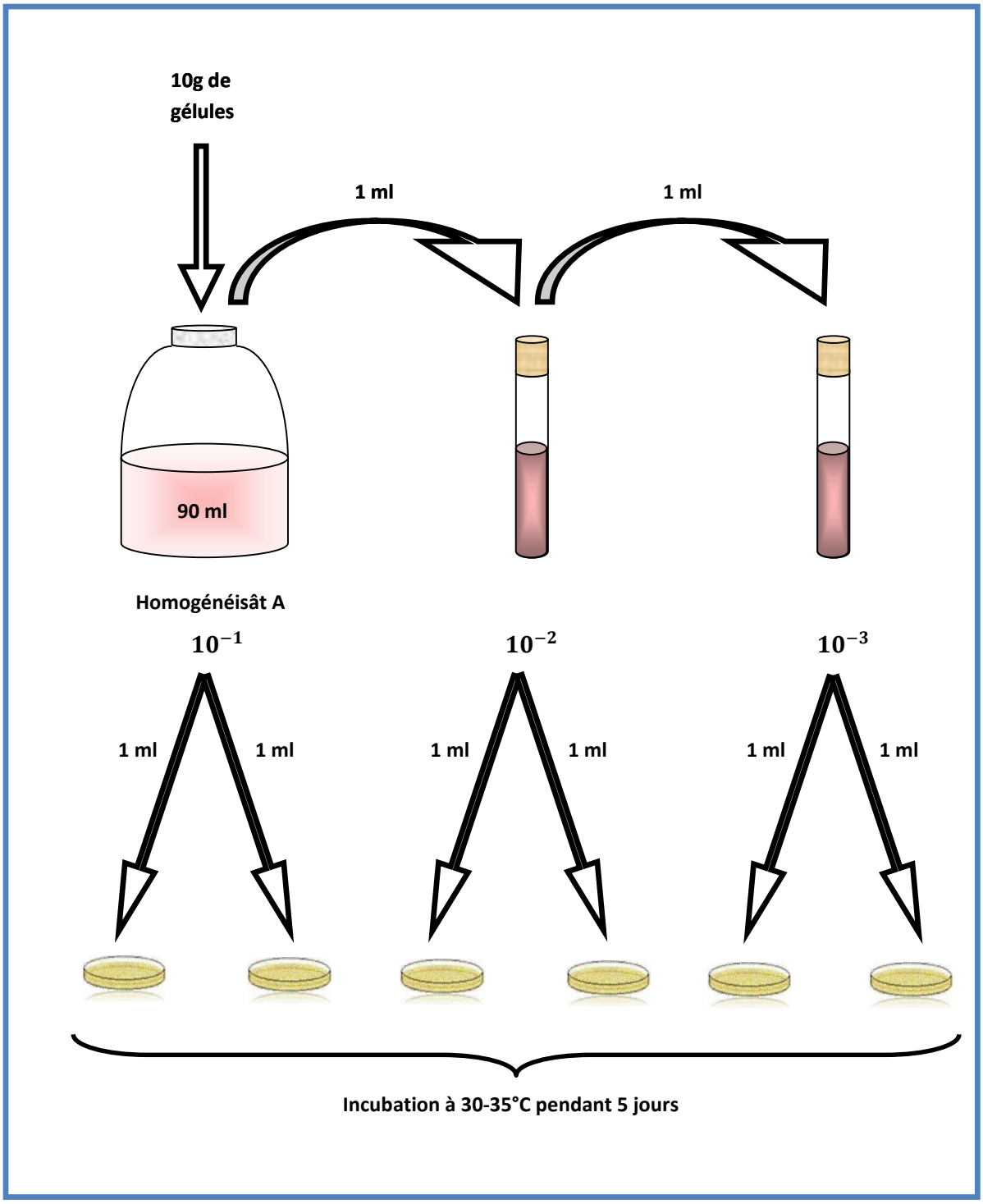
- On laisse solidifier et on sèche,
- On incube à 30 - 35°C pour les bactéries et à 20 - 25°C pour les levures et moisissures, pendant 5 jours**.**

- **Lecture et interprétation des résultats**

- On sélectionne les boites correspondant à une dilution et présentant le plus grand nombre de colonies inférieur à 300 (inférieur à 100 pour les levures et moisissures),

- On fait la moyenne, arithmétique des dénombrements des deux boites de la dilution sélectionnée,
- On calcule le nombre d'unités formant colonie par gramme de produit en multipliant par l'inverse de la dilution sélectionnée.

- **Les colonies :** forme lenticulaire.



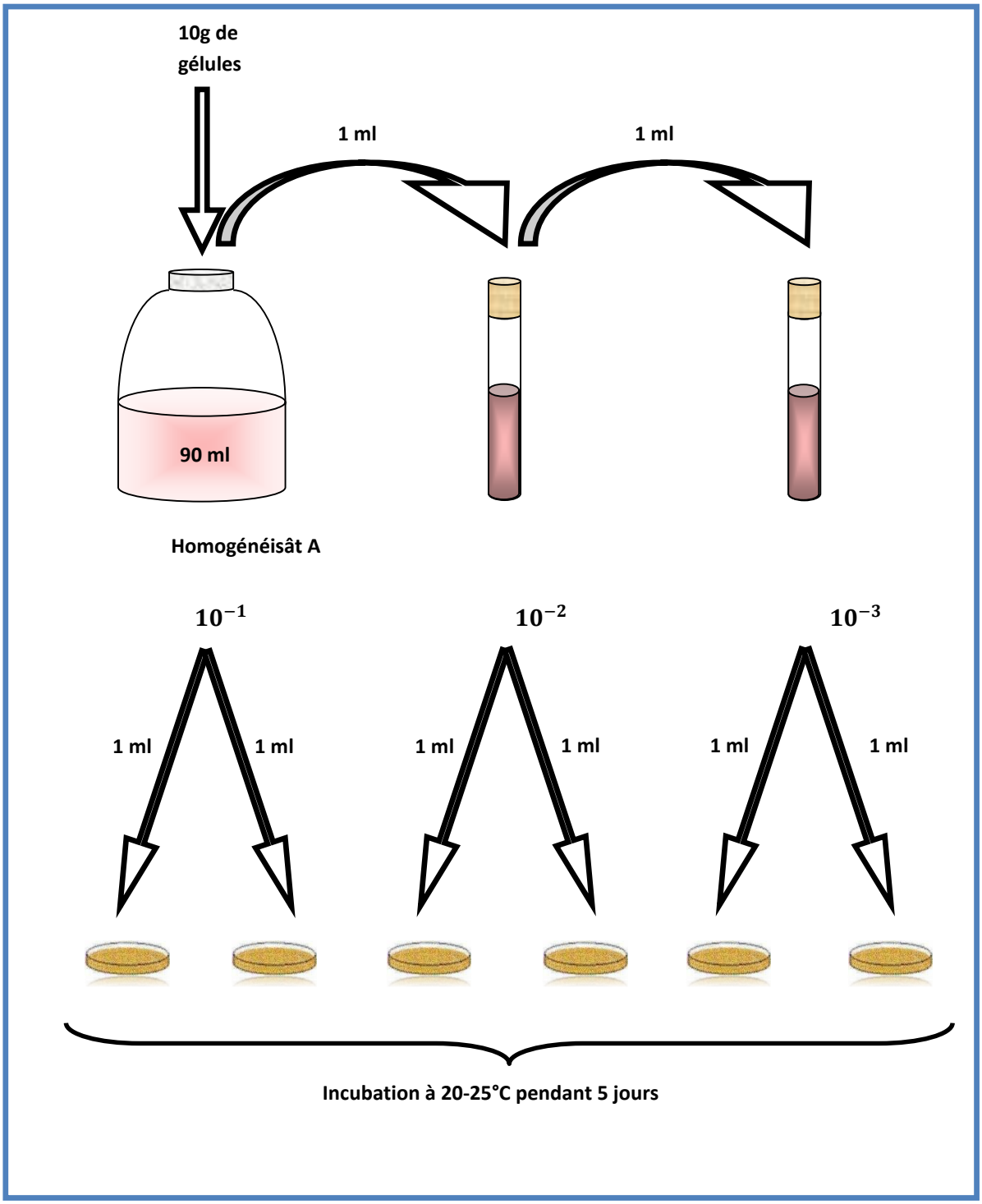
Légende :

Flacon de la solution tampon peptone au chlorure de sodium pH 7,0 contenant du tween

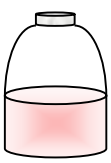
9ml de même solution tampon

Boite de pétrie contenant la gélose de caséine et de soja (CS)

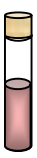
Figure 6 : Schéma du dénombrement des bactéries aérobies viables totales



Légende :



Flacon de la solution tampon peptone au chlorure de sodium pH 7,0 contenant du tween



9ml de même solution tampon



Boite de pétrie contenant de la gélose sabouraud-glucose

Figure 7 : Schéma du dénombrement des levures et moisissures

I.2.2.2. Recherche de micro-organismes spécifiés

a - Recherche des Entérobactéries

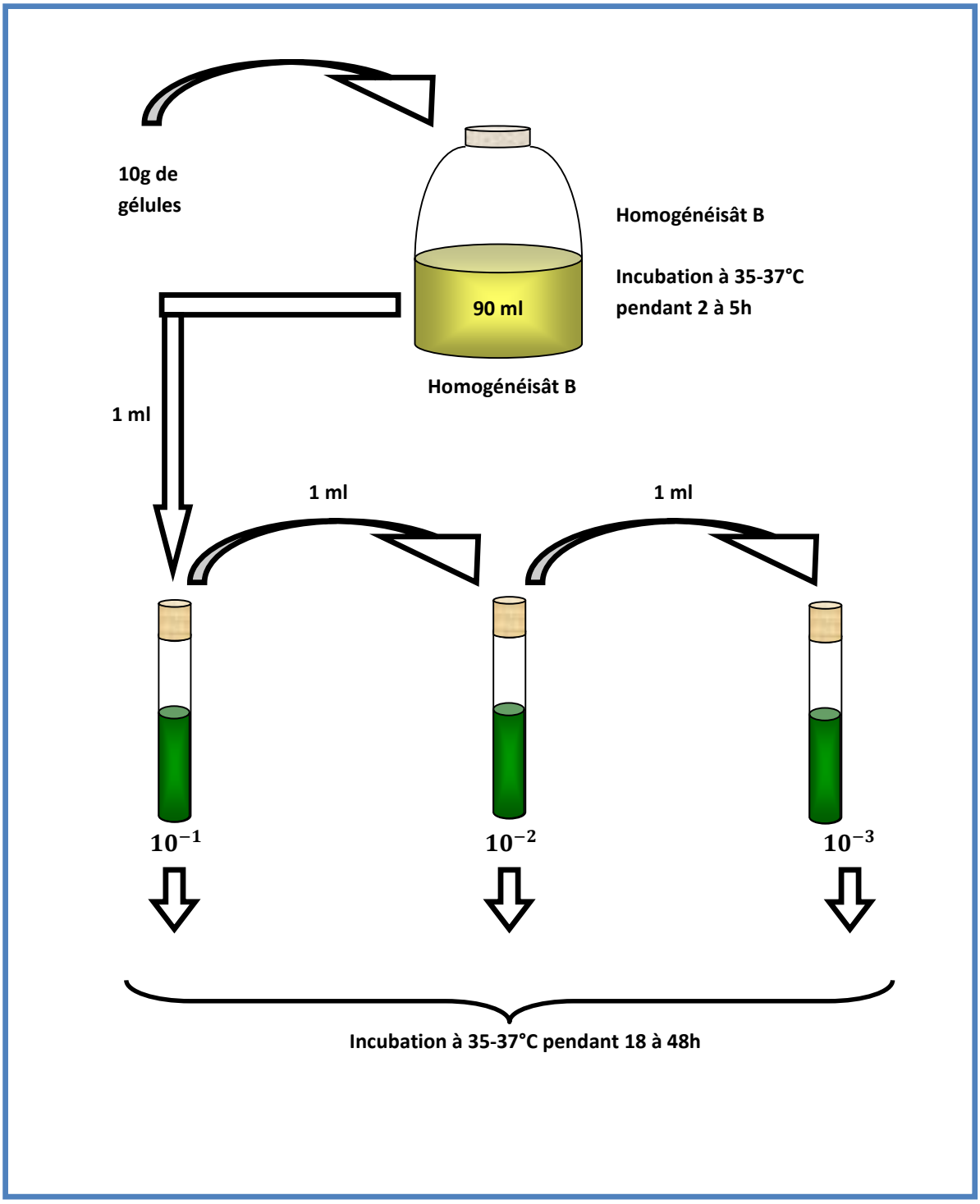
La recherche des Entérobactéries se fait sur milieu d'enrichissement Mossel.

- **Mode opératoire (Figure 8)**

- On pèse 10g des gélules, à partir d'un mélange moyen des échantillons prélevés selon le plan d'échantillonnage, et on les dilue dans 90 ml de bouillon lactose : « homogénéisât B » contenant du Tween,
- On les met au bain marie à une température ne dépassant pas les 40°C pendant 60 minutes jusqu'à dissolution totale,
- On homogénéise et on incube à 35 - 37°C pendant 2 à 5 h pour revivifications,
- A partir de «homogénéisât B», on prélève 1 ml et on le met dans un tube de 9 ml du milieu d'enrichissement Mossel: c'est la dilution 1/10,
- A partir de la dilution 1/10, on réalise les dilutions 1/100 et 1/1000 dans le même milieu liquide Mossel,
- On incube les tubes à 35 - 37°C pendant 18 à 48 heures.

- **Interprétation des résultats**

La présence des Entérobactéries se manifeste par un trouble dans le milieu liquide Mossel.



Légende :



Figure 8 : Schéma du dénombrement des Entérobactéries

b - Recherche d'*Escherichia coli* et Coliformes

Le dénombrement d'*Escherichia coli et* les coliformes se fait sur milieu gélosé de Mac-Conkey.

- **Mode opératoire (Figure 9)**

- A partir de «l'homogénéisât A», on prélève 10 ml d'échantillon qui correspond à 1g du produit et on les introduit dans 90 ml du milieu liquide à la peptone de caséine de soja contenant du tween,
- On homogénéise et on incube à 35 - 37 °C pendant 18 à 48 h,
- On agite le récipient puis on prélève 1ml et on ensemence 90 ml du milieu liquide de Mac-Conkey,
- On incube à 43 - 45°C pendant 18 à 24 h,
- On effectue des subcultures sur milieu gélosé de Mac-Conkey,
- On incube à 37°C pendant 18 à 72 h.

- **Interprétation des résultats**

La présence d'*Escherichia coli* se manifeste par des colonies colorées en rouge brique entourées parfois d'une zone de précipitions rougeâtre.

I.2.3.2.c - Recherche des *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* se fait sur gélose Chapman.

- **Mode opératoire (Figure 9)**

- A partir de « l'homogénéisât A», on prélève 10 ml d'échantillon qui correspond à lg du produit et on les introduit dans 90 ml du milieu liquide à la peptone de caséine et de soja contenant du tween
- On homogénéise et on incube à 35 - 37 °C pendant 18 à 48 h,
- On effectue des subcultures sur gélose Chapman ,
- On incube à 35 - 37°C pendant 18 à 72 h.

- **Interprétation des résultats**

La présence de *Staphylococcus aureus* est confirmée s'il apparait sur le milieu Vojel-Johnson des colonies petites, noires avec halo jaune.

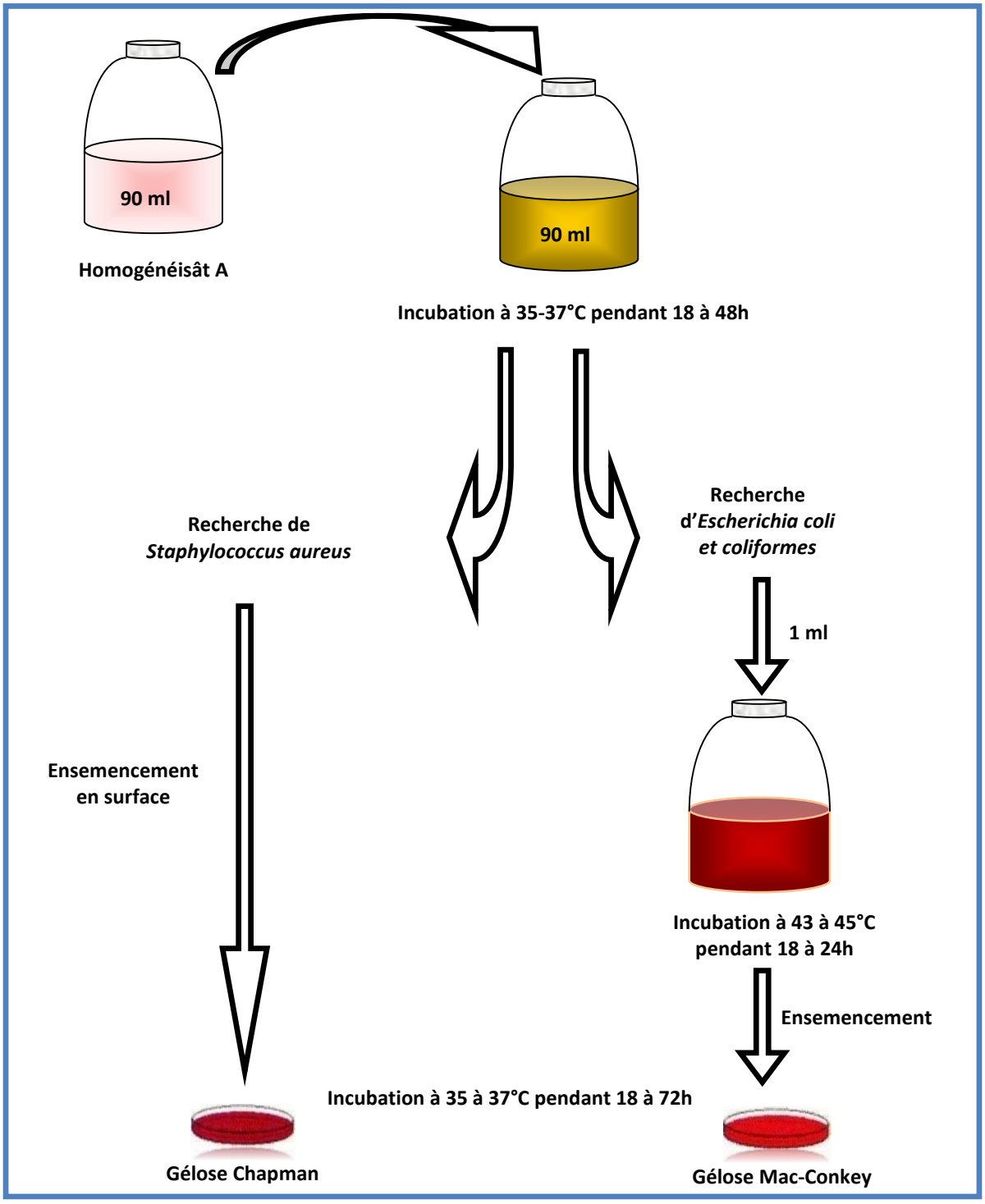


Figure 9 : Schéma de recherche de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli*

I.2.3.2.d - Recherche des Salmonelles

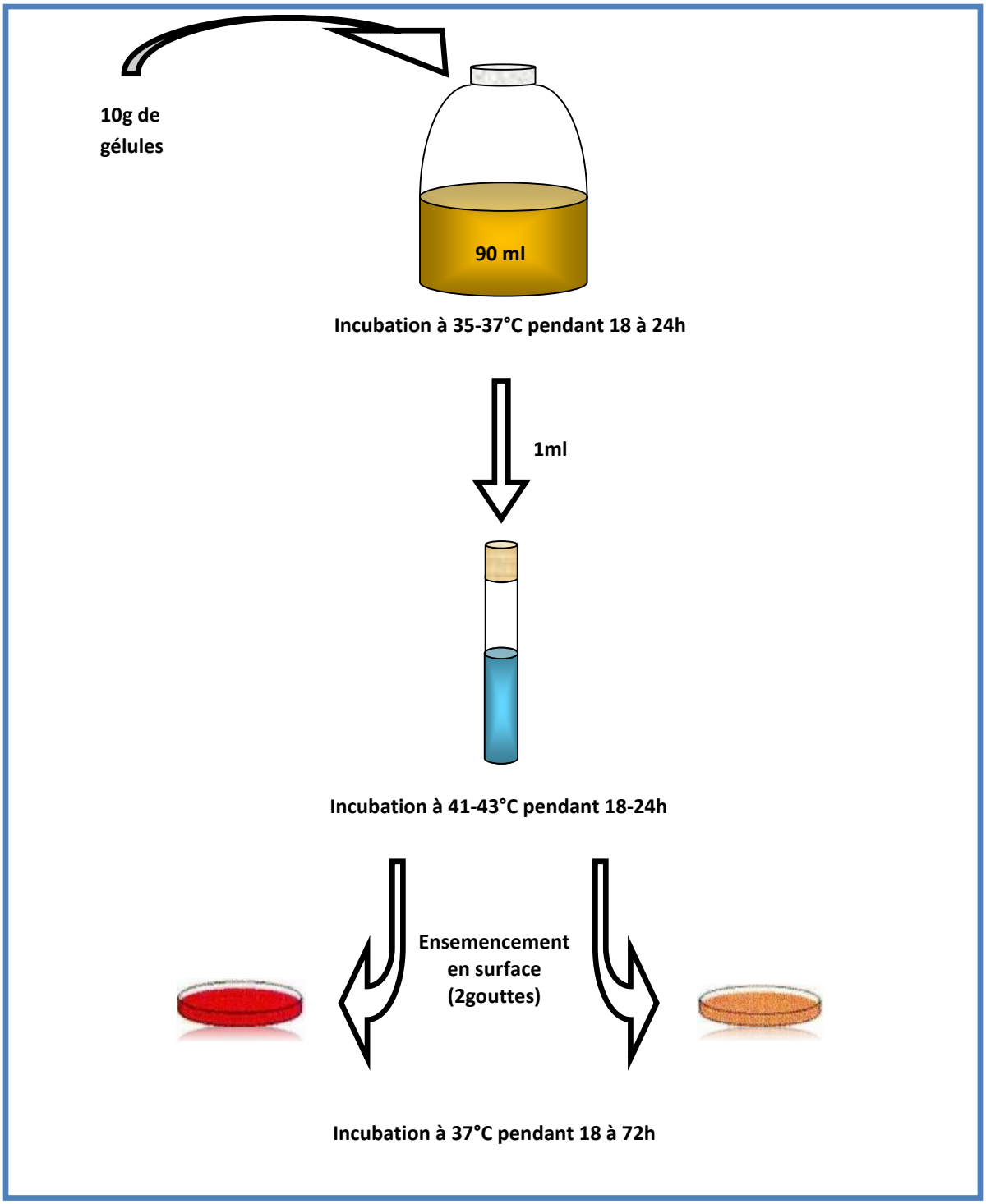
Le dénombrement des Salmonelles se fait sur gélose (XLD) et gélose (BPLS).

- **Mode opératoire (Figure 10)**

- On pèse 10 g du produit à partir d'un mélange moyen des échantillons prélevés selon le plan d'échantillonnage, et on les dilue dans 90 ml de milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (CS),
- On homogénéise et on incube à 35 - 37°C pendant 18 à 24 h,
- On agite le récipient puis on prélève 1 ml et on l'introduit dans 9 ml du milieu liquide au tetrathionate-bile-vert brillant (TBG),
- On incube à 41-43°C pendant 18-24 h,
- On effectue des subcultures sur au moins 2 milieux géloses différents parmi les 3 milieux suivants :
  1- milieu «I» gélose au citrate et désoxycholate.
  2- milieu «II» gélose-xylose-lysine-désoxycholate (XLD)
  3- milieu «III» gélose au vert brillant-rouge de phénol-lactose-saccharose (BPLS)
- On incube à 35 - 37°C pendant 18-72 h.

- **Interprétation des résultats**

Sur gélose (XLD) : colonies transparentes, souvent centre noir.
Sur gélose (BPLS) : petites colonies rose rouge avec halo rouge.



Légende :



Figure 10 : Schéma de recherche des Salmonelles

I.2.3. Contrôle de toxicité anormale des gélules produit fini (ZANITRA PLUS®)

Ce test est appelé aussi test de toxicité anormale par voie orale.

I.2.3.1 - But :

L'objet est de révéler par méthode biologique la présence d'une ou plusieurs anomalies de nature variée du produit (ZANITRA PLUS®).

I.2.3.2 - Principe :

Le contrôle consiste en l'administration à des souris dans des conditions définies, une dose unique et adéquate de (ZANITRA PLUS®) par voie orale.

Aucune anomalie ni mortalité ne doivent être constatées après une période d'observation de 48 heures.

I.2.3.3 - Méthode :

Choix et conditions d'élevage des animaux :

- Souris Albinos,
- Nombre : 15 (5/ lot),
- Poids : 17 - 22 g,
- Sexe : mâle et femelle (séparer),
- Boisson : eau de ville,
- condition d'hébergement : - Température 20 – 24°C.
  - Humidité : 50 ± 10 %.
  - Eclairage : 10 heures.

Mode opératoire :

- On met les souris à jeun la veille de l'essai,
- On va fondre la gélule de (ZANITRA PLUS®) au bain marie à 37°C dans 150 ml d'eau distillée,
- On administre (ZANITRA PLUS® à 150-15 mg) par voie orale aux 3 lots de souris (5 par lot) à la dose de 375 mg/kg sulfate ferreux et 1.25 mg/kg d'acide folique mg/ kg sous un volume de 0,5 ml,

L'observation d'éventuels effets toxiques, en l'occurrence le nombre de mortalité se fait tous les jours ce pendant 48 heures jusqu'aux 15 jours.

Calcul de la dose administrée :

ZANITRA PLUS® : 150 mg sulfate ferreux
0.5 mg acide folique

150 mg ⟶ 60 kg
X ⟶ 1 kg
X = 150 × 1 / 60 = (dose) mg/kg

60 kg : poids corporel

2,5 mg ⟶ 1000 g
X ⟶ 20 g
X = 20 × 2,5 / 1000 = (dose) mg / souris

20 g : poids moyen de la souris

On calcule la dose à administrer pour chaque souris prenant en considération le coefficient de sécurité :

0,05 × 10 = (dose) mg / souris

7,5 mg ⟶ Souris
2,5 mg ⟶ 0,5 ml
150 mg ⟶ X
X = 150 × 0,5 / 7,5 = (dose) mg / souris

Norme :

On ne doit remarquer aucune anomalie, ni mortalité à la dose de 375 mg/kg sulfate ferreux et 1.25mg/kg d'acide folique.

RESULTATS & DISCUSSION



II. Résultats et interprétations

Les résultats des différents contrôles effectués sur le ZANITRA PLUS® sont représentés dans des tableaux.

II.1- Résultats du contrôle physico-chimique

II.1.1. Gélules vides

II.1.1.a - Caractère

Le résultat de l'analyse visuelle portant sur les critères de forme et de couleur du lot (20009616) de gélules vides (Tableau X), et conforme aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008), **(ANNEXE 4).**

Tableau X : Résultat tu test visuel des gélules vides.

N° lot	Résultat	Norme
20009616	Gélules à corps transparent portant l'inscription ZANITRA PLUS ® de couleur grise et la tête rouge opaque portant le logos SAIDAL de couleur blanche	Conforme

II.1.1.b - Identification de la gélatine

Le résultat de l'identification de la gélatine du lot (20009616) de gélules vides représenté dans le tableau XI, et conforme aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008), **(ANNEXE 4).**

Tableau XI : Résultat de l'identification de la gélatine.

N° lot	Résultat	Norme
20009616	Apparition d'un précipité au fond du tube à essai	Conforme

II.1.1.c - Identification du dioxyde de titane

Le résultat de l'identification du dioxyde de titane du lot (20009616) de gélules vides représenté dans le tableau XII, montre une concordance parfaite avec les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008), **(ANNEXE 4).**

Tableau XII : Résultat de l'identification du dioxyde de titane.

N° lot	Résultat	Norme
20009616	l'apparition d'une coloration jaune orangée	Conforme

II.1.1.d - Odeur

Le résultat de l'analyse d'odeur du lot (20009616) de gélules vides représenté dans le tableau XIII, montre une concordance parfaite avec les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

Tableau XIII : Résultat du test de l'odeur.

N° lot	Résultat	Norme
20009616	Les gélules vides ne doivent développer aucune odeur étrangère (autre que l'odeur des gélules elles même)	Conforme

II.1.1.e - Poids moyen

Le résultat du poids moyen de 100 gélules du lot (20009616) de gélules vides et représenté dans le tableau suivant :

Tableau XIV : Résultat du poids moyen.

N° lot	Poids moyen (mg)	Norme
20009616	76,46	70,7 à 81,3 mg

D'après le tableau XIV, la moyenne des valeurs du poids moyen de 100 gélules est de 76,46 mg, ce résultat est conforme aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008), qui doit être compris entre 70,7 et 81,3 mg.

II.1.1.f - Perte à la dessiccation

Les résultats du test de la perte à la dessiccation sur les gélules vides du lot (20009616) sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XV : Résultats du taux de perte.

N° lot	P1(g)	P2(g)	P3(g)	Taux de perte (%)	Norme
20009616	66,37	1,638	67,27	15,33	13,0 % à 16,0%.

D'après le tableau ci-dessus, le pourcentage de la perte à la dessiccation est de 15,33%, ce résultat coïncide avec les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

II.1.1.g - Temps de désagrégation

Le résultat du test du temps de désagrégation des gélules vides du lot (20009616) et représenté dans le tableau suivant :

Tableau XVI : Résultat du temps de désagrégation.

N° lot	Temps (mn)	Norme
20009616	7	≤ 15 mn

D'après le tableau XVI, le temps de désagrégation est de 7 minutes, c'est un temps bref et conforme aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008).

II.1.1.h - Arsenic

Le résultat du test d'arsenic réalisé sur les gélules vides du lot (20009616) représenté dans le tableau XVII montre une concordance parfaite avec les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

Tableau XVII : Résultat du test d'arsenic.

N° lot	Résultat	Norme
20009616	Après 2 heures au moins, la tache obtenue sur le disque de l'essai, n'est pas plus foncée que celle obtenue sur le disque du témoin	conforme

II.1.1.i - Métaux lourds

Les résultats du test des métaux lourds réalisé sur les gélules vides du lot (20009616), représentés dans le tableau XVIII, sont conformes aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008).

Tableau XVIII : Résultat du test des métaux lourds.

N° lot	Résultat	Norme
20009616	- Le témoin comparé à l'essai à blanc, doit montrer une légère coloration brune. - Après 2 min, la coloration brune éventuelle de la solution obtenue à partir de la solution à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin.	- Conforme - Conforme

II.1.1.j - Lubrifiant

Les résultats de ce test sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XVIIII : Résultat du taux du lubrifiant.

N° lot	P1(g)	P2(g)	P3(g)	Taux de lubrifiant (%)	Norme
20009616	10,06	110,15	110,63	15,33	13,0 % à 16,0%.

D'après le tableau XVIIII, le taux du lubrifiant est de 15,33%, ce résultat est compris entre 13,0 % et 16,0% donc il est conforme aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

II.1.1.k - L'anhydride sulfureux

Les résultats du test sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XX : Résultat du taux d'anhydride sulfureux.

N° lot	P1(g)	n (ml)	Teneur en anhydride sulfureux %	Norme
20009616	1,538	8,1	0,39	< 1%

D'après ce tableau, la teneur en anhydride sulfureux est de 0,39%, ce résultat coïncide avec les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008) et qui doit être inférieur à 1%.

II.1.1.l - Cendres sulfuriques

Les résultats du test sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XXI : Résultats du taux des cendres sulfuriques.

N° lot	P1(g)	P2(g)	P3(g)	Taux des Cendres sulfuriques (%)	Norme
20009616	27,582	2,006	27,753	8,52	< 9%

D'après le tableau ci-dessus, on a obtenu un taux de cendres sulfuriques qui est égal à 8,52%, ce résultat est inferieur 9% donc il est conforme aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008).

II.1.2. Produit fini :

II.1.2.a - Caractères organoleptiques :

Le résultat de l'analyse visuelle portant sur les critères organoleptiques des trois (03) lots du produit fini ZANITRA PLUS® représenté dans le tableau XXII, et conforme aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008), **(ANNEXE 4).**

Tableau XXII : Résultat du test visuel du produit fini.

N° lot	Résultat	Norme
101 102 103	Gélules à corps transparent portant l'inscription ZANITRA PLUS ® de couleur grise et la tête rouge opaque portant le logo SAIDAL de couleur blanche remplies de pellets rouges bruns, jaunes et blancs.	Conforme

II.1.2.b - Poids moyen :

Les résultats du poids moyen de 20 gélules pour chacun des trois (03) lots du produit fini ZANITRA PLUS® sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XXIII : Résultats des poids moyens.

N° lot	Poids moyen (mg)	Norme
101	509	499 à 530 mg
102	504	
103	509	

D'après le tableau XXIII, les moyennes des valeurs du poids moyen de 20 gélules sont 509mg, 504mg et 509mg, ce résultat et conforme aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008), qui doit être compris entre 499 et 530 mg.

II.1.2.c - Poids moyen net :

Les résultats du poids moyen net de 20 gélules pour chacun des trois (03) lots du produit fini ZANITRA PLUS® sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau XXIV : Résultats des poids moyens net.

N° lot	Poids moyen net (mg)	Norme
101	437	422 à 448 mg
102	431	
103	437	

D'après le tableau ci-dessus, les valeurs du poids moyen net de 20 gélules sont 437mg, 431mg et 437mg, ce résultat est compris entre 422 à 448 mg, ce qui coïncide avec les normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008).

II.1.2.d - Uniformité de masse :

Les résultats d'uniformité de masse de 20 gélules pour chacun des trois (03) lots du produit fini ZANITRA PLUS® (Tableau XXV), sont conformes aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008). En effet, la masse d'aucune gélule ne peut s'écarter de plus de 7,5% du poids moyen.

Tableau XXV : Résultats d'uniformité de masse.

N° lot	Les poids des gélules (mg)									
101	0,442	0,443	0,435	0,439	0,450	0,428	0,436	0,413	0,432	0,442
	0,436	0,427	0,445	0,447	0,444	0,441	0,441	0,440	0,441	0,440
102	0,448	0,457	0,438	0,445	0,446	0,450	0,451	0,456	0,442	0,446
	0,446	0,454	0,456	0,445	0,455	0,447	0,448	0,457	0,444	0,443
103	0,436	0,441	0,435	0,446	0,435	0,440	0,437	0,440	0,425	0,435
	0,435	0,438	0,437	0,445	0,434	0,435	0,446	0,434	0,440	0,431

II.1.2.e - Identification des principes actifs :

II.1.2.e.1 - Identification des sulfates ferreux :

Le résultat de l'identification des sulfates ferreux représenté dans le tableau XXVI et conforme aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008), **(ANNEXE 4).**

Tableau XXVI : Résultat de l'identification des sulfates ferreux.

N° lot	Résultat	Norme
101 102 103	Apparition d'une couleur orange intense qui disparait après l'addition du sulfate d'ammonium	Conforme

II.1.2.e.2 - Identification de l'Acide folique :

Le résultat de dosage de l'acide folique confirme son identification.

II.1.2.f - Test de dissolution :

Les résultats du test de dissolution du produit fini ZANITRA PLUS® sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XXVII : Résultats du test de dissolution.

	N° lots	Abs Témoin (%)	Abs essai (%)					Moyenne (%)	Norme
1ére heure	101	0,644	39,99	29,34	29,40	30,60	30,45	30,15	25 et 60 %
	102	0,760	35,87	33,68	30,17	34,75	38,21	34,53	
	103	0,760	37,17	47,29	37,87	48,40	42,29	41,39	
2ème heure	101	0,644	65,84	57,38	58,80	60,26	56,00	59,85	50 et 80 %
	102	0,760	62,57	59,34	58,43	55,17	62,23	58,34	
	103	0,760	71,09	80,74	73,06	74,12	75,46	60,54	
3ème heure	101	0,644	54,84	64,90	58,34	62,42	62,20	76,93	>70 %
	102	0,760	85,19	82,25	76,42	76,02	83,25	80,61	
	103	0,760	80,93	73,43	74,15	78,98	77,20	74,89	

D'après le tableau XXVII, les moyennes des valeurs du test de dissolution sont conformes aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

II.1.2.g - Dosage :

II.1.2.g.1 - Dosage des sulfates ferreux :

Les résultats de dosage du sulfate ferreux par spectrophotométrie UV-Visible sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XXVIII : Résultats du dosage des sulfates ferreux.

N° lots	Abs témoin (%)	Abs essai (%)	Dosage (mg)	Norme
101	0,644	0,642	147,87	135 à 187,5 mg
102	0,760	0,774	151,76	
103	0,760	0,782	152,03	

Les résultats de dosage du sulfate ferreux par spectrophotométrie UV-Visible sont 147,87mg, 151,76mg et 152,03mg, comme le (Tableau XXVIII) le montre, ce résultats et conforme aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008), qui doit être compris entre 135 et 187,5 mg.

II.1.2.g.2 - Dosage de l'acide folique :

Les résultats du dosage de l'acide folique par spectrophotométrie UV-Visible sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau XXIX : Résultats du dosage de l'acide folique.

	Abs essai blanc HCl (%)	Abs témoin blanc (%)	Abs essai blanc (%)	Abs témoin (%)	Abs essai (%)
101	0,022	0,011	0,056	0,183	0,245
102	0,022	0,002	0,056	0,145	0,140
103	0,021	0,015	0,050	0,181	0,234

N° lots	Abs témoin (%)	Abs essai (%)	Dosage (mg)	Norme
101	0,172	0,167	0,49	0,45 à 0,75 mg
102	0,143	0,139	0,49	
103	0,166	0,205	0,61	

D'après le tableau ci-dessus, les résultats du dosage de l'acide folique par spectrophotométrie UV-Visible sont 0,49 mg, 0,49mg et 0,61 mg, ils sont compris entre 0,45 et 0,75 mg ce qui montre une concordance parfaite avec les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

II.2- Résultats du contrôle de pureté microbienne des gélules produit fini (ZANITRA PLUS ®) :

- **Lot N°101**

Test	Résultats	Normes
Dénombrement des germes viables totaux	00 UFC/g	≤ 1000 UFC/g
Dénombrement des levures et moisissures	00 UFC/g	≤100 UFC/g
Dénombrement des Entérobactéries	00 UFC/g	≤100
Dénombrement des Escherichia coli Et Coliformes	Absence	Conforme
Dénombrement des *Staphylococcus aureus*	Absence	Conforme
Dénombrement des Salmonelles	Absence	Conforme

Tableau XXX : Résultats du contrôle de pureté microbienne des gélules produit fini (ZANITRA PLUS ®) (Lot N°101)

D'après le tableau XXX, les résultats du contrôle de pureté microbienne du produit fini (lot N°101) présentent une absence totale des germes viables totaux et des germes spécifiés ce qui répond aux normes sur le plan microbiologique, exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

- **Lot N°102**

Test	Résultats	Normes
Dénombrement des germes viables totaux	00 UFC/g	≤ 1000 UFC/g
Dénombrement des levures et moisissures	00 UFC/g	≤100 UFC/g
Dénombrement des Entérobactéries	00 UFC/g	≤100
Dénombrement des *Escherichia coli*	Absence	Conforme
Dénombrement des *Staphylococcus aureus*	Absence	Conforme
Dénombrement des Salmonelles	Absence	Conforme

Tableau XXXI : Résultats du contrôle de pureté microbienne des gélules produit fini (ZANITRA PLUS ®) (Lot N°102)

D'après le tableau ci-dessus, les résultats du contrôle de pureté microbienne du produit fini (lot N°102) montrent une absence totale des germes viables totaux et des germes spécifiés donc une conformité aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008).

- **Lot N°103**

Test	Résultats	Normes
Dénombrement des germes viables totaux	00 UFC/g	≤ 1000 UFC/g
Dénombrement des levures et moisissures	00 UFC/g	≤100 UFC/g
Dénombrement des Entérobactéries	00 UFC/g	≤100
Dénombrement des *Escherichia coli*	Absence	Conforme
Dénombrement des *Staphylococcus aureus*	Absence	Conforme
Dénombrement des Salmonelles	Absence	Conforme

Tableau XXXII : Résultats du contrôle de pureté microbienne des gélules produit fini (ZANITRA PLUS®) (Lot N°103)

D'après le tableau XXXII, les résultats du contrôle de pureté microbienne du produit fini (lot N°103) présentent une concordance parfaite avec les normes sur le plan microbiologique, exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

III.3- Résultats du contrôle toxicologique des gélules produit fini (ZANITRA PLUS ®) :

	Nombre de souris qui ont subies une injection	**Quantité d'échantillon injectée**	**Norme**	**Résultat**
101 102 103	5 souries pour chaque lot	0,5ml pour chaque sourie	Aucune anomalie ni mortalité ne doit être remarquée	Conforme

Tableau XXXIII : Résultats du contrôle de la toxicité anormale du produit fini (ZANITRA PLUS®)

D'après le (Tableau XXXIII), le médicament ZANITRA PLUS® n'a montré aucune mortalité des souris traitées après une période de 48 heures d'observation, confirmant ainsi, une absence totale de toxicité et une parfaite innocuité de ce médicament. Ces observations concordent parfaitement avec les normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

DISCUSSION GENERALE

Notre travail a visé trois grands objectifs : le contrôle physicochimique, microbiologique et toxicologique du produit pharmaceutique ZANITRA PLUS®, produit par le groupe pharmaceutique SAIDAL.

Les résultats du contrôle physicochimique des gélules vides ont montré un aspect satisfaisant, conforme aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne (2008).Selon **LINDEN (1981)**, ces caractères sont évalués par la composante sensorielle qui est importante mais subjective, variable selon l'individu et sa référence intellectuelle puisque elle est fondée sur la couleur et l'aspect général.

Le poids moyen des gélules vides qui est de 76,46 mg, cette valeur coïncide avec les normes décrites par la Pharmacopée Européenne (2008).

Le temps de désagrégation et la perte de masse à la dessiccation des gélules vides ont présenté des valeurs qui sont comprises dans l'intervalle exigé par la Pharmacopée Européenne (2008).

Selon **PRADEAU (1992),** les métaux lourds sont des impuretés minérales toxiques. La coloration brune obtenue avec les solutions de gélules vides analysées n'est pas plus intense que celle du témoin, ce qui indique la présence avec un taux inférieur à 50 ppm des métaux lourds.

Une série d'essai par un ensemble d'analyses qualitatives et quantitatives purement physico-chimiques (identification de la gélatine, du dioxyde de titane, d'arsenic …etc.) ont également présenté des résultats satisfaisants.

Les résultats du contrôle physicochimique du produit fini présentent des caractéristiques organoleptiques, et une uniformité de masse qui coïncide avec les normes exigés par la Pharmacopée Européenne (2008).

Le test de dissolution a montré que le pourcentage de libération du principe actif après la troisième heure a été élevé dépassant les 70%, ce qui signifie une très bonne biodisponibilité du ZANITRA PLUS® pour l'organisme.

L'identification et le dosage des principes actifs : le sulfate ferreux et l'acide folique par spectrophotométrie UV-Visible a donné des valeurs moyennes comprises successivement dans les intervalles : [135 mg - 187,5 mg] et [0,45 mg - 0,75 mg] prescrits par la Pharmacopée Européenne (2008).

Ces résultats nous permettent de déduire que la qualité physicochimique du ZANITRA PLUS® s'accorde aux normes universelles de la Pharmacopée Européenne (2008).

Pour le contrôle microbiologique du produit fini, le dénombrement a fait ressortir l'absence totale des bactéries aérobies viables totales, des levures et moisissures. Ainsi qu'une absence des micro-organismes spécifiés (Entérobactéries, *Escherichia coli*, Salmonelles, *Staphylococcus aureus*). Sachant que les Entérobactéries sont des germes mobiles, capsulées ou non, rencontrés dans le sol et les eaux, ce sont des commensaux du tube digestif, peuvent exceptionnellement se révéler comme agents de pleurésies, méningites ou pyélonéphrites **(PILET., 1979).**

Les Salmonelles sont présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux et présentent des variations importantes de pathogénicité en fonction de la nature de l'hôte, la contamination des produit alimentaires peuvent être originelle (animaux malades) ou provenir de manipulateurs malades ou porteurs sains de germes **(PRESCOTT., 2003).**

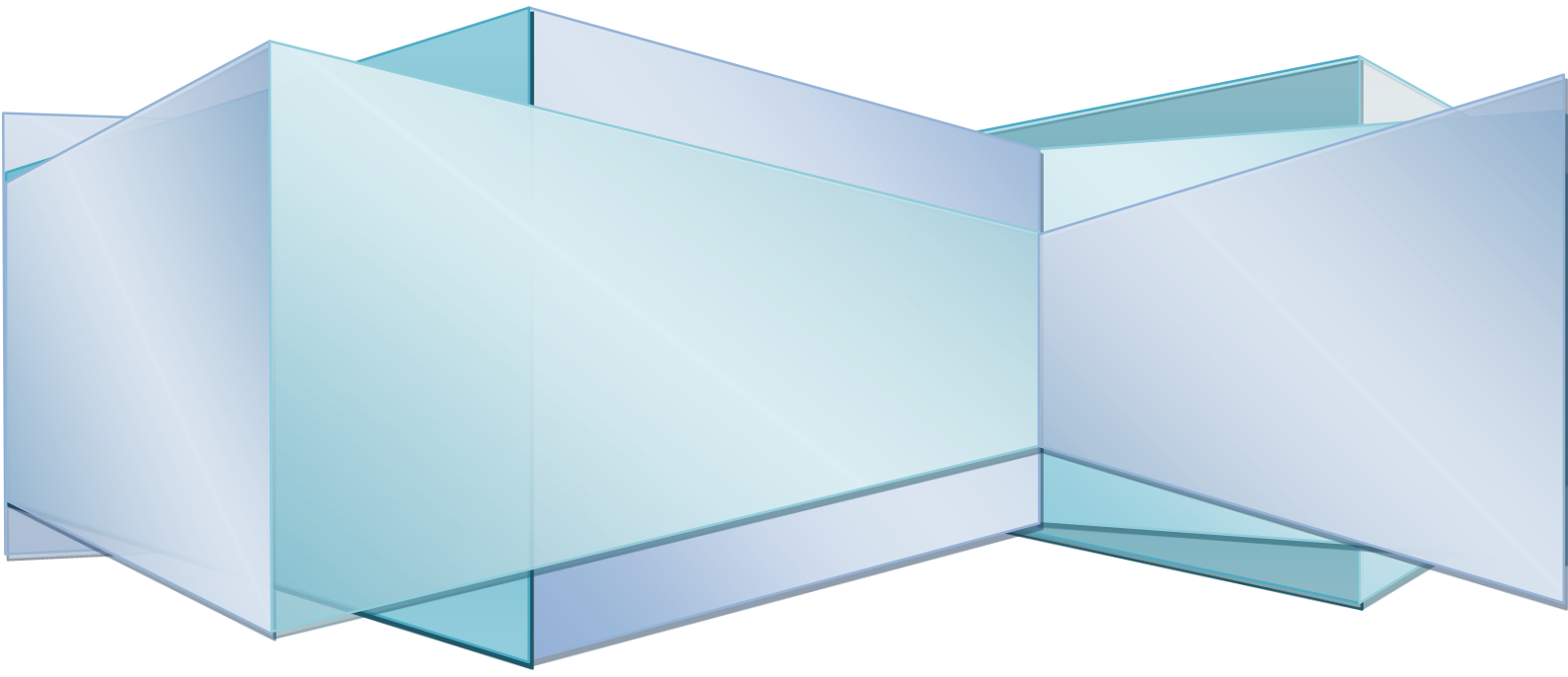
La qualité microbiologique parfaite du ZANITRA PLUS®, traduite par l'absence de ces germes est en relation avec le traitement mis en œuvre dans les pays exportant ces emballages et du deuxième traitement par les UV effectués au sein de l'unité avant leurs utilisation, en plus l'état déshydraté du sulfate ferreux anhydre donc c'est un milieu défavorable à la croissance des germes et nous laisse supposer que ce produit a subi un traitement efficace en vue d'éliminer toutes sortes de microorganismes.

Ces valeurs nous ont permis de conclure que la qualité microbiologique du ZANITRA PLUS® est parfaite, résultant du respect des règles d'hygiène.

Le contrôle toxicologique dont la recherche de la toxicité anormale ou essai d'innocuité n'a révélé aucune anomalie visible sur une période de surveillance de 48 heures allant jusqu'à 15 jours d'où la conclusion de conformité du ZANITRA PLUS® par rapport aux normes toxicologiques de la Pharmacopée Européenne (2008).

On peut dire que le ZANITRA PLUS® répond parfaitement aux exigences de la Pharmacopée Européenne (2008) concernant les produits non obligatoirement stériles par un résultat reflétant leur innocuité, leur pureté microbiologique et leur qualité physicochimique, ceci grâce au respect des bonnes pratiques de fabrication, et des bonnes pratiques du laboratoire.

CONCLUSION



CONCLUSION

Le contrôle physicochimique, microbiologique et toxicologique de l'antianémique ZANITRA PLUS® sous forme de gélule produit par le groupe pharmaceutique SAIDAL a représenté les résultats suivants :

- Une bonne qualité organoleptique avec un aspect et une couleur conforme aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008).

- Des résultats physicochimiques conformes aux normes exigées par la pharmacopée européenne (2008) concernant : l'uniformité de masse, la dissolution, et le dosage du principe actif par spectrophotométrie UV-Visible. Ces résultats sont les indicateurs d'une bonne stabilité du ZANITRA PLUS®.

- Des résultats très rassurants sur le plan microbiologique, avec une absence totale des germes aérobies viables totaux, des levures et moisissures et des germes recherchés (*E.coli*, *Staphyloccocus aureus*, Salmonelles et Entérobactéries).

- Aucune anomalie ou mortalité lors du contrôle de toxicité traduisant une parfaite conformité avec les normes recommandées.

Le contrôle des produits pharmaceutiques ou des matières premières est un élément primordial de leur aptitude à satisfaire le consommateur (en matière de sécurité).Quel que soit le produit concerné, les conditions de sa production et celles de sa transformation ou de sa distribution ont un effet sur l'assurance de la qualité**.**

D'après les résultats obtenus des différents paramètres contrôlés, on peut conclure que le médicament générique ZANITRA PLUS® produit par le groupe SAIDAL présente une très bonne qualité, équivalente à celle du médicament d'origine TARDYFERON B9 produit par le Laboratoire Pierre Fabre Médicament.

Le médicament générique ZANITRA PLUS® sous forme de gélules offre un plus grand avantage pour ce qui est rapport « Qualité - Prix » au détriment du TARDYFERON B9, médicament d'origine. En effet, le prix d'une boite de 30 gélules de ZANITRA PLUS® est environ **250** DA contre **350** DA pour une boite de 30 comprimés de TARDYFERON B9 ce qui influe nettement sur le coût d'un traitement prescrit.
Pour cela, il nous paraît important de signaler cet avantage aux différents utilisateurs par les représentants commerciaux de SAÏDAL ainsi qu'aux médecins afin de prescrire en priorité le ZANITRA PLUS® à leurs patients.

Une meilleure politique d'information et de sensibilisation sur la qualité et la sécurité de ce médicament et de l'ensemble des médicaments génériques serait de nature à conforter la confiance du consommateur dans l'utilisation de ces médicaments et réduirait le prix, notamment dans un secteur aussi stratégique que celui de la santé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **AIACHE J.M., BEYSSAC E., CARDOT J.M., HOFFART V., RENOUX R.** 2008 : Initiation à la connaissance du médicament, 5éme Edition, Masson, Paris, 413p.
- **ANONYME, 2002** : Larousse médical, Edition Larousse, 1203p.
- **ANONYME, 2005** : Dictionnaire des médicaments, SAIDAL, 690p.
- **ANONYME**, **2008** : Pharmacopée Européenne.
- **ANONYME a, 2009** : VIème Congrès Maghrébin d'Hématologie et de Transfusion Sanguine, Laboratoire GSK.
- **ANONYME b, 2009** : Vidal,
- **ANONYME a, 2018** : Notice de ZANITRA PLUS®.
- **ANONYME b, 2018** : Fiche des produits pharmaceutiques, fichier interne de SAIDAL.

B

- **BERKOWITZ B., COUSTAN D., MOCHIKI T**. **1983** : Médicament de grossesse, Edition MEDI, 277p.
- **BOURIN M.**, **ALLAIN H., LIEVRE M**. **1993** : Cours de pharmacologie, 351p.

C

- **CHAPUIS**. **1994** : Oligo-élément en médecine et biologie, Edition Tec et Doc, 474p.

D

- **DELAMARE G**. **2004** : Dictionnaire illustré des termes de médecine, 28^{eme} Edition, Malore, Paris, 534p.
- **DESCOTURE J.M., DAPHIN A., FARINOTTI R., FARE P., GHISLAIN C., PIHUEE P., SAULNIER J.L., SURUGE J., TALBERT M., TERRIER J.L.** 1988 : Le bon usage des médicaments, Frison-Roche/Sidem, Paris, 397p.
- **DORVAUL F. 1982** : L'officine, 2éme Edition, Vigot, 2089p.

F

- **FAUCHERE J.L., AVRIL J.L. 2002** : Bactériologie générale et médicale, Edition, Ellipses, Paris365p

G

- **GAIGNAULT. 1972** : Principe de la recherche d'un médicament, Edition technique et documentation, 400p.
- **GARNIER M., DELAMARE V., DELAMAR J., DELAMAR T., DELAMAR F., DELAMAR L., MALVILLE E. 1995** : Dictionnaire des termes de médecine, 24éme Edition, Maloire, 264p.
- **GUIRNARD J.P. 2003** : Microbiologie alimentaire, Edition Duond, Paris, 615p.

L

- **LECHAT P. 2006** : Pharmacologie, Edition Masson, Paris, 394p.
- **LE HIR A. 2001** : Abrégé de pharmacie galénique «bonne pratique de fabrication des médicaments», 8éme Edition, Masson, Paris
- **LE HIR.A. 2002** : Pharmacie galénique, Edition, Masson, Paris, 394p.
- **LESPAGNOL A. 1979** : Chimie des médicaments, Tome I, Edition Tec et Doc perfectionnement industriel des cadres, Genève**,** 440p
- **LULLMAN H., MOHR K., ZIEGLER A. 1998** : Atlas de poche de pharmacologie, 2éme Edition, Médecine Science Flammarion, 376p.

M

- **MANUILA A., MANUILA L., NICOLE M., LEMBERT H. 1981** : Dictionnaire français de médecine et de biologie, Edition Masson, Paris, 331p.
- **MARYADELE J., O'NEIL., ANN S., PATRICIA E., BUDAVARI S. 2001** : The Merck Index; An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biological, 13th Edition, MERCK & CO INC, 355p.
- **MOULIN M. 1998** : Abrégé de pharmacologie. Edition Masson, Paris, 587p.
- **MOULIN M., COQUEREL A. Pharmacologie, 2éme Edition, Masson, 2002**, 845p.

P

- **PIERRE A. 1999** : Pharmacologie « les médicaments », 3éme Edition, 465p.
- **PILET C., BOURDON J.L., TOMA B., MARCHAL N., SALBSTERE C.** 1979 : Bactériologie médicale et vétérinaire, Edition Doin, Paris, 473p.
- **PRADEAU D. 1992** : L'analyse pratique du médicament. Edition Tec et Doc - LAVOISIER, Paris, 791 p.
- **PRESCOTT HARLEY ET KLEIN. 2003** : Microbiologie, Edition de boeck, 1137p.

S

- **SCRIBAN R. 1999** : **Biotechnologie** Tec et Doc, 5éme Edition, Paris.
- **SMAILI F. 2003** : ABREGE D'HEMATOLOGIE, Edition O.P.U, 312p.

T

- **TALBERT M., WILLOQUET G., LABAYLE D. 2001** : Guide pharmaco, Edition Lamare, France, 1600p.
- **TALBERT M., WILLOQUET G., LABAYLE. D. 2004** : Guide pharmaco, Edition Masson, Paris, 196p.

ANNEXES

ANNEXE 1

❖ **Matériels non biologique :**

I.1- Verreries et autre :

- Tubes à essai.
- Pipettes graduée (1 ml, 2ml, 5ml, 10ml, 20ml, 25 ml).
- Pipettes double trie.
- Pipettes pasteurs.
- Pipeter.
- Pissette (eau distillée, alcool).
- Fioles (25ml, 50ml, 100ml, 250ml, 1000ml).
- Fiole conique.
- Entonnoir.
- Papier filtre.
- Bécher.
- Creuset en silice.
- Flacon en verre.
- Capsules en verre.
- Erlenmeyer.
- Tige en verre.
- Burette.
- Parafilm.
- Porte tubes.
- Gants.
- Mortier.
- Boite pétrie.
- Bec benzen.
- Spatules.
- Capsules.

I.2 - Appareillage :

- Plaque chauffante.
- Minéralisateur.
- Four a moufle.
- Bain marie.
- Dessiccateur.
- Etuve.
- Balance.
- Balance pour animaux.
- Appareil de délitement.
- Agitateur.
- pH mètre.
- Dissolu test.
- Spectrophotomètre UV-VIS.
- Homogénéisateur.
- Sonde de gavage.
- Seringue de 2,5 ml à usage unique.
- Cage a souris transparente en propylène.

ANNEXE 2

Les milieux de cultures :

❖ **Bouillon aux peptones de caséines et de soja (BCS)**

- Peptones de caséine ……. (17g).
- Peptones de farine de soja ……..... (3g).
- Chlorure de sodium ……... (5g).
- Phosphate dipotassique ……... (2,5g).
- Glucose monohydraté……..... (2,5g).
- Eau purifiée…….…… (1000 ml).

Ajuster le PH pour qu'il soit de 7,3 plus ou moins 0,1 après stérilisation. Procéder à la stérilisation par chauffage à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

❖ **Milieu Agar aux peptones de caséine et de farine de soja (CS)**

- Peptone de caséine ……... (15g).
- Peptone de farine de soja ……..... (5g).
- Chlorure de sodium …… (5g).
- Agar agar …….. (15g).

pH = 7.3 $\pm$ 0.2

❖ **Milieu gélosé sabouraud-glucose avec chloramphénicol**

- Peptones de viande et de caséine ……. (10g).
- Glucose monohydraté …….. (40g).
- Gélose …… (15g).
- Eau purifiée …… (1000 ml).

Ajuster le PH pour qu'il soit de 5,6 plus ou moins 0,2 après stérilisation. Procéder à la stérilisation par chauffage à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Immédiatement avant l'emploie ajouter 0,1g de benzylpénicilline sodique et 0,1g de tétracycline par litre de milieu sous forme de solutions stériles.

Ces antibiotiques peuvent être remplacés par du chloramphénicol à raison de 50mg par litre de milieu, le chloramphénicol est ajouté avant stérilisation **(ANONYME, 2008)**

❖ **Milieu liquide Mac-Conkey**

- Hydrolysat pancréatique de gélatine……. (20g).
- Lactose monohydraté ……. (10g).
- Bile de bœuf déshydratée……..….. (5g).
- Pourpre de bromocrésol …….…….... (10mg).
- Eau purifiée ……..……... (1000 ml).

Ajuster le PH pour qu'il soit de 7,3 plus ou moins 0,2 après stérilisation. Procéder à la stérilisation par chauffage à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes **(ANONYME, 2008).**

❖ **Milieu gélosé Mac-Conkey**

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

On ajuster le PH pour qu'il soit de 7,1 plus ou moins 0,2 après stérilisation. On porte à l'ébullition pendant 1 minute en agitant constamment, puis on procède à la stérilisation par chauffage à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

Les agents de sélection sont : les sels biliaires et le cristal violet, le rouge neutre est un colorant.

❖ **Solution tampon peptone au chlorure de sodium**

Cette solution est utilisée pour la dilution d'échantillon destiné à une numération ou à la recherche *Pseudomonas aeroginosa* ou de S*taphylococcus aureus*

- Potassium dihydrogenophosphate ……..… (3,56g).
- Di-sodium hydrogenophosphate 2 H_20 ……..... (7,23g).
- Chlorure de sodium…….…. (4,3g).
- Peptone de viande ……. (1, 0g).

On dissout 16g de mélange dans un litre d'eau distillée, si nécessaire on ajoute 1 à 10m1 de tween 20 ou 80 et on le met dans l'autoclave pendant 15min à 121°C

pH = 7,0 ± 0,1.

❖ **Bouillon d'enrichissement selon Mossel**

Milieu proposé pour d'enrichissement sélectif des *Entérobacteriacées.*

Mode d'action

La flore secondaire indésirable est largement inhibée par le vert brillant et labile de bœuf.

La teneur en glucose favorise la croissance de toutes des *Entérobacteriacées*.

- Peptone de viande …….. (10,0g).
- D(+) glucose ……...……...…. (5,0g).
- bile de boeuf desséchée ……...…...… (20,0g).
- vert brilland ……...……... (0,015g).
- phosphate disotique ……..…… (8,0g).
- phosphate mono-potassique …….……..… (2,0g).

On dissout 45g de mélange dans un litre d'eau distillée, puis le répartie en tubes et on le met dans l'autoclave pendant 5min à 121°C.

pH = 7,3 ± 0,1

❖ **Bouillon d'enrichissement au tetrathionate, au vert brillant et à la bile**

Ce milieu nutritif liquide sert à l'enrichissement des salmonelles.

- Peptone de viande ……..…..… (8,6g).
- Bile de bœuf desséchée ……..… (8,0g).
- Chlorure de sodium……..… (6,4g).
- Carbonate ……..….. (20,0g).
- Tetrathionate de potassium …….……. (20.0g).
- Vert brillant ……..…. (0.07g).

On dissout 63g de mélange dans un litre d'eau distillée, on ne chauffe pas à plus de 90°C au bain marie, on le répartie en tubes en ayant soin d'homogénéiser le précipité de carbonate de calcium ; on n'utilise pas d'agitateur magnétique.

Ne pas autoclaver, ni réchauffer le milieu.

pH =7,0 ± 0,2.

❖ **Agar sélectif pour Staphylococcus selon Vojel-Johnson**

Milieu pour la mise en évidence des staphylocoques mannitol positif

- Peptone de caséine …….. (10 g).
- extrait de levure ……. (5g).
- D(-) mannitol ……...…… (10g).
- chlorure de lithium ……. (5g).
- glycine ……..… (10g).
- rouge de phénol…….…. (0.025g).
- agar-agar……..…… (13 g).
- ajouter potassium de tellurite……..…… (0,2g).

pH= 6.8 ± 0.2

❖ **Agar sélectif pour Staphylococcus selon Chapman**

Milieu pour la mise en évidence des staphylocoques mannitol positif

- Peptone :.....(10,0 g).
- Extrait de viande de bœuf :.....(1,0 g).
- Chlorure de sodium :.....(75,0 g).
- Mannitol :.....(10,0 g).
- Rouge de phénol :.....(0,025 g).
- Agar-Agar :.....(15,0 g).
- Eau distillée :..... (1000 ml).

pH = 7,4

❖ **Agar à la xylose, à la lysine et au désoxycholate (XLD)**

Agar différentiel pour l'isolement et la différenciation des bactéries des espèces *Shigella* et *Salmonella.*

- D(-) xylose ……...…... .(3,5g).
- L(-) lysine ……..……. (5g).
- lactose ……...…..…… (7,5g).
- Saccharose ……..…… (7,5g).
- sodium chlorure ……..……..…… (5,0g).
- extrait de levure ……..……..…….. (3,0g).

- désoxycholate de sodium ……..…… (2,5g).
- thiosulfate de sodium …….……..…… (6,8g).
- citrate féerique ammoniac …….……...…. (10,8g).
- rouge de phénol …….…….. (0,08g).
- Agar-agar …….……..... (13,5g).

On dissout 55g de mélange dans un litre d'eau distillée, on chauffe brièvement, on le coule en boites, on autoclave pas le mélange.

pH = 7.5 ± 0.2.

❖ **Milieu gélosé au vert brillant-rouge de phénol -lactose-saccharose (BPLS)**

- Peptone de viande……(5g).
- Peptone de caséine……...(5g).
- Extrait de viande ……..(5g).
- Lactose…….…….. (10g).
- Saccharose …….……... (10g).
- Chlorure de sodium …… (3g).
- Phosphate disodique …….….. (2g).
- Rouge de phénol ……... (0,08g).
- Vert brillant …… (0,0125g).
- Agar-agar …… (120g).
- Eau distillée……..… (1000ml).

pH = 6,0 ± 0,2

ANNEXE 3

Excipients :

Les excipients entrants dans la composition du ZANITRA PLUS® sont représentés dans le tableau ci-dessus :

	Matières premières	**Quantité /gélule**	**Quantité centésimale**	**Quantité/lot**
Excipients	Non panel seeds	234 mg	43,121%	110,50 kg
	Povidone K30	3,75 mg	1,463%	3,750 kg
	Alcool isopropylique	51,25 ml	/	175,00 L
	Saccharose*	20,00 mg	7,804%	20,00 kg
	Dibutyle phosphate	0,25 ml	/	2,500 L
	Ethyl cellulose	12,50 mg	4,878%	12,50 kg
	Dibchlométhane	1,25 ml	/	125,00 L
	Talc purifié	2,50 mg	0,975%	2,500 kg
	Dioxyde de titane	2,50 mg	0,975%	2,500 kg
	Alcool acétylique	2,50 mg	0,975%	2,500 kg

ANNEXE 4



Figure 11 : Résultats du test visuel de gélule vide
(Original, 2018)



Figure 12 : Résultat de l'identification de la gélatine
(Original, 2018)



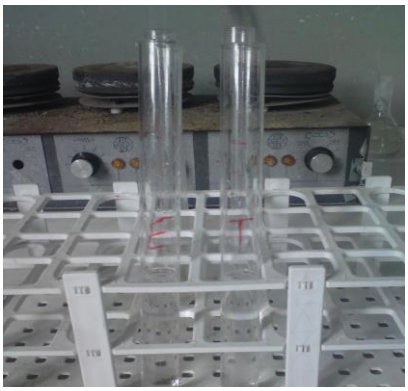


Figure 13 : Résultat de l'identification du dioxyde de titane
(Original, 2018)



Figure 14 : Résultat du test visuel du produit fini
(Original, 2018)



Figure 15 : Résultat de l'identification des sulfates ferreux
(Original, 2018)

GLOSSAIRE

- **Biodisponibilité :** Un terme utilisé pour décrire une propriété pharmacocinétique des médicaments
- **Bioéquivalence :** Deux principes actifs sont dits bioéquivalents lorsqu'ils déterminent les mêmes concentrations après administration.
- **Desquamation :** Elimination normale ou pathologique de la couche cornée de la peau.
- **Dysmyélopoïèse :** Les cellules sont porteuses d'anomalies morphologiques.
- **Erythropoïèse :** L'ensemble des processus de production des érythrocytes (globules rouges)dans la moelle osseuse rouge à partir de cellules souches hématopoïétiques totipotentes, sous la dépendance de l'érythropoïétine. L'érythropoïèse dure environ 5 jours.
- **Hématopoïèse :** Le processus physiologique permettant la création et le renouvellement des cellules sanguines ou hématocytes.
- **Hypochrome :** On parle de globule rouge hypochrome lorsqu'il apparaît pâle au microscope optique après coloration au May-Grünwald Giemsa.
- **Ictère :** Un ictère ou jaunisse correspond à la coloration jaune des téguments (peau et muqueuses : on parle d'ictère cutanéo-muqueux).
- **Œdème :** Un œdème correspond au gonflement d'un organe ou d'un tissu dû à une accumulation ou un excès intratissulaire de liquides dans le milieu interstitiel.
- **Opacifiant :** Produit de contraste, produit radio-opaque.
- **Pharmacocinétique** : Etude de devenir d'un médicament dans l'organisme en fonction du temps et de la dose administrée.
- **Pharmacodynamique :** Etude des effets des médicaments sur l'être vivant.
- **Prophylaxies :** La prophylaxie caractérise l'ensemble des mesures prises par les professionnels pour prévenir l'apparition d'une maladie. Ces mesures visent également à éviter la propagation de la maladie. La prophylaxie a pour rôle de préserver la santé contre tout ce qui pourrait l'endommager.
- **Tween :** Neutralisant permettant la recherche des germes dans des produits contenant des antiseptiques.

RESUME

Le but de cette étude est un contrôle de qualité d'un antianémique générique « ZANITRA PLUS® » sous forme de gélule, produit par SAIDAL. Les analyses effectuées ont porté sur des contrôles physico-chimiques des gélules vides et du produit fini, des contrôles microbiologiques et toxicologiques du produit fini.

Les résultats obtenus sont totalement conformes aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne (2008) et traduisent :

- Une bonne qualité physicochimique des gélules vides et du produit fini « ZANITRA PLUS® »
- Une qualité microbiologique remarquable du produit fini « ZANITRA PLUS® ».
- Une excellente qualité toxicologique du produit fini « ZANITRA PLUS® ».

Ces résultats confirment la très bonne qualité du médicament générique « ZANITRA PLUS® ».

Mots clés : ZANITRA PLUS®, antianémique, contrôle physicochimique, microbiologique, toxicologique, qualité.

SAMMARY

The purpose of this study is a quality control of generic anti-anemic "ZANITRA PLUS ®" in capsule form, produced by SAIDAL.

The analyses carried out related to physicochemical controls of the empty capsules and finish product and microbiological and toxicological controls of the finished product.

The obtained results are totally in accordance with the standards required by the European Pharmacopoeias (2008) and translate:

- A good physico-chemical quality of the empty capsules and the finished product « ZANITRA PLUS® ».
- A remarkable microbiological quality of the finished product « ZANITRA PLUS® ».
- An excellent toxicological quality of the finished product « ZANITRA PLUS® ».

These results confirm the very good quality of the generic medicine « ZANITRA PLUS® »

Key Words: ZANITRA PLUS®, anti-anemic, physicochemical, microbiological, toxicological controls, quality.

ملخص

إن الهدف من هذه الدراسة هو مراقبة نوعية الدواء الجنيس المضاد لفقر الدم « زانيترا بلوس » على شكل كبسولات، الذي تنتجه صيدال.

وقد شملت التحاليل الجانب الفيزيوكيميائي للكبسولات الفارغة و المنتج النهائي،و الجانب الميكروبيولوجي و التسممي للمنتج النهائي.

أظهرت النتائج المحصل عليها توافقا تاما مع المعايير المحددة من طرف الموسوعة الصيدلانية الأوروبية (2008) وذلك من خلال:

- النوعية الفيزيوكيميائية الجيدة للكبسولات الفارغة و للمنتج النهائي « زانيترا بلوس ».
- السلامة الميكروبيولوجية للمنتج النهائي « زانيترا بلوس »من خلال النوعية الميكروبيولوجية الممتازة.
- السلامة التسممية للمنتج النهائي « زانيترا بلوس ».

هذه النتائج تؤكد النوعية الجيدة للدواء الجنيس « زانيترا بلوس ».

الكلمات الأساسية: زانيترا بلوس، مضاد فقر الدم ، مراقبة فيزيوكيميائية، ميكروبيولوجية، التسممية، نوعية.