REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité : Chimie macromoléculaire

Par :

BENCHIKH Amina
BOUSSAHOUA Faiza

Thème :

Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique pour usage pharmaceutique

Soutenu publiquement le : 19 /06 /2019, Devant le jury composé de :

Dr : GASMI .Sara N	MCB	Université de Médéa	Président
Dr : GHERDAOUID	MAB	Université de Médéa	Examinateur
Dr : FARCH Sabrina	MCB	Université de Médéa	Encadreur

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

On remercie Allah le tout puissant de nous avoir données la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de M^me^* ***S. FARCH*** *enseignante à la Faculté des Sciences de l'université de Médéa, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait M^me^* ***S. GASMI*** *enseignante à la Faculté des Sciences de l'université de Médéa, en étant président du jury.*

*Nous exprimons toute notre reconnaissance à M^me^* ***D. GHERDAOUI****, enseignante à la Faculté des Sciences de l'université de Médéa, de l'intérêt qu'elle porte à ce travail, qu'elle soit également très vivement remerciée d'avoir acceptée d'être membre du jury de ce mémoire.*

Il nous est très agréable d'exprimer nos vifs remerciements à : ***Mr ABDELI Nouar****, ingénieur de laboratoire physico-chimique au niveau de SAIDAL MEDEA, pour son aide et soutien.*

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, le fruit des cinq ans d'étude à:

Mes plus chers au cœur : mon père et ma mère.

Ceux qui partagent ce bonheur avec moi : Mon frère : Hamza.

Mes sœurs Samira et son mari, Wassila, wahiba,Rachida, mes neveux et mes nièces Iness, Oumaima et Ahlem.

Mes proches sans exception

Ma chère binôme : Amina et sa famille.

Mes copines : Sadjia, Fadia , Yasmina, Selma, sabra et Ibtissem

Tous mes enseignants sans exception.

Ma promotion de spécialité chimie macromoléculaire ***2018/2019***

FAIZA

إهداء

الحمد لله الذي أنار دربي و يسر لي أمري لإنهاء عملي.

اهدي ثمرة جهدي إلى ينبوع العطاء و الحنان أمي الغالية "رقية " أطال الله في عمرها.

إليك والدي الحبيب "محمد" لقد كنت نعم الأب و مازلت, اسأل الله أن يحفظك أبي العزيز أطال الله في عمرك.

و إلى واحة الحب و الدفئ جدي "المهدي" و جدتي "حليمة" و جدتي "مسعودة" حفظهم الله و بارك لنا في عمرهم .

إلى سندي و مصدر قوتي و كبريائي إلى كل إخوتي :"أسيا","هدى","عبد الحق","طارق"و أخر العنقود "أيوب".

إلى أعمامي و عمتي العزيزة, و أخوالي و خالاتي.

إلى من قاسمني حلو الحياة و مرها , إلى كل صديقاتي "هاجر" "عبلة" هدى" "هجيرة" "هاجر" و "فتيحة" .

إلى التي شاركتني الأخوة قبل أن تشاركني العمل "فائزة".

إلى كل من علمني حرفا .

إلى كل أصدقاء الجامعة خاصة طلبة قسم الكيمياء دفعة 2019 .

إلى التي احن إليها شوقا لأصلي بمسجدها فلسطين الحبيبة.

أمينة

ملخص:
تشمل صناعة المستحضرات الصيدلانية أنشطة بحثية لتصنيع وتسويق الأدوية لكل من الطب البشري والبيطري.
انها واحدة من الصناعات الأكثر أهمية في العالم. وفقًا لـ O.M.S ، فإن العقار هو أي مادة أو تركيبة مقدمة على أنها تمتلك خصائص علاجية أو وقائية فيما يتعلق بالأمراض البشرية أو الحيوانية.
من أجل الحصول على إجراء علاجي متطابق دائمًا مع نفس المنتج الصيدلاني ، يجب أن يكون لهذا الأخير خصائص ثابتة ومحددة تمامًا.
الهدف من هذه الدراسة هو إجراء المكافحة الفيزيائية والميكروبيولوجية لـ RETARCILINE 1.2MUI.
أعطت جميع التحليلات التي أجريت على كل من المعلمات من العنصر النشط والمنتج النهائي ، القيم وفقا للمعايير المستخدمة. وكذلك عدم وجود كائنات حية قابلة للحياة.
في الختام ، يعتبر عقار ريتارسيلين الذي تم اختباره ذا جودة دوائية جيدة.
الكلمات المفتاحية: الدواء, RETACILINE 1.2 MUI ، التحليل الفيزيوالكيميائي والميكروبيولوجي

Résumé
L'industrie pharmaceutique regroupe les activités de recherche de fabrication et de commercialisation des médicaments que ce soit pour la médecine humaine ou vétérinaire. Elle consiste l'une des industries les plus importantes économiquement au monde. Selon l'O.M.S, le médicament est toute substance ou composition présentés comme possèdent des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales.
Afin d'obtenir une action thérapeutique toujours identique avec un même produit pharmaceutique, ce dernier doit présenter des caractéristiques constantes et parfaitement définies.
L'objectif de cette étude consiste à réaliser le contrôle physico-chimique et microbiologique du RETARCILINE 1.2MUI.
Toutes les analyses effectuées sur chacun des paramètres du principe actif et du produit fini, ont donné des valeurs conformes à la norme utilisée. Ainsi que absence de micro-organismes viable.
En conclusion, le médicament Retarciline testé est considéré de bonne qualité pharmaceutique.
Mots clés: Médicament, RETARCILINE1.2MUI, analyse physico-chimique et microbiologique.

Abstract
The pharmaceutical industry includes research activities for the manufacture and marketing of drugs for both human and veterinary medicine. It is one of the most economically important industries in the world. According to the O.M.S, the drug is any substance or composition presented as possessing curative or preventive properties with respect to human or animal diseases.
In order to obtain an always identical therapeutic action with the same pharmaceutical product, the latter must have constant and perfectly defined characteristics.
The objective of this study is to carry out physicochemical and microbiological control of RETARCILINE 1.2MUI.
All the analyzes carried out on each of the parameters of the active ingredient and the finished product, gave values in accordance with the standard used. As well as lack of viable microorganisms.
In conclusion, the drug Retarciline tested is considered to be of good pharmaceutical quality.
Key words: Drug, RETARCILINE1.2MUI, physico-chemical and microbiological analysis.

Sommaire

Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations et symboles
Introduction…… 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Notions sur les médicaments et contrôle de qualité

1. Définition d'un médicament…… 3
2. Mise en forme…… 3
3. Composition du médicament…… 4
3.1. Principe actif (PA)…… 4
3.2. Excipient…… 4
3.3. Additif…… 4
3.4. Récipient…… 5
4. conditionnement …… 5
5. conservation et date premption…… 5
5.1. Conservation…… 5
5.2. Date de premption…… 6
5.3. Lot et numéro de lot…… 6
5.3.1. Lot…… 6
5.3.2. Numéro de lot…… 6
6. contrôle pharmaceutique …… 6
6.1. Qualité dans l'industrie d'un médicament…… 6
6.2. Définition de la qualité…… 7
6.3. Contrôle…… 7
6.4. But de contrôle de la qualité…… 7
6.5. Contrôle de qualité d'un médicament…… 8
6.5.1. Contrôle physico-chimique…… 8
6.5.2. Contrôle microbiologique…… 8

Chapitre II : Notions sur les antibiotiques

1. Définition d'antibiotique…… 12
2. Classification …… 12
2.1. Antibiotiques inhibitant la synthèse de la paroi…… 13
2.2. β-lactamines…… 13
2.2.1. Structure…… 13
2.3. Pénicillines…… 14
3. Présentation de médicament à analyser…… 15
4. Composition de la Retarciline ®1.2MUI…… 16

4.1. Principe actif……. 16
5. Classification ATC…….. 17
6. Indication thérapeutiques…… 17
7. Contre indications…… 17
8. Posologie……. 17

Chapitre III : Analyse physicochimique et microbiologique de la Retarcilline® 1.2MUI
Matériels et méthodes

1. Cadre d'étude …….. 19
2. Matériels ……. 19
2.1. Appareils, équipements et verreries…….. 19
2.2. Réactifs chimiques et biologiques…… 21
3. Echantillonnage…… 21
3.1. Matière première (le principe actif)……... 21
3.2. Produit fini RETARCILINE ®1.2 MUI…… 22
4. Contrôle physicochimique……... 23
4.1. Principe actif…… 23
4.1.1. Aspect…… 23
4.1.2. Identification…….. 23
A. Identification par infrarouge…….. 23
B. Chromatographie sur couche mince…… 24
1. préparation de la solution de l'aérosol (vaporisateur)……... 25
2. préparation de la solution de référence ……. 25
3. préparation de la solution à examinée……. 25
C. Colorimétrie…… 26
D. Domaine UV-visible de la spectrophotométrie…….. 26
1. préparation de la solution à examinée…… 28
2. préparation de la solution blanc……. 28
E. Etude d'acidité et alcalinité……. 28
F. Chromatographie performance à haute pression (HPLC)……... 28
1. préparation de la solution à examinée …….. 30
2. préparation de la solution témoin (a)…… 30
3. préparation de la solution ……. 30
4.2. Produit fini…… 31
A. aspect de la poudre…….. 31
B. 1.Dosage de pénicilline G par HPLC…….. 31
B.1.1. préparation de la solution standard pénicilline G……. 31
B.1.2. préparation de la solution à examinée……... 31
5. Contrôle microbiologique…….. 35

5.1. Objectif de ce contrôle……. 35
5.2. Contrôle de stérilité des milieux de culture ……. 35
5.3. Contrôle de fertilité des milieux de culture……..…….….. 36
5.4. Test de stérilité de Retarciline ……...…….. 36
5.5.Incubation…….. 36
5.6. Lecture…….. 37
5.7. Test fertilité de Retarciline®……. 38
5.8. Interprétation……. 38

Résultats et discussions

ontrôle physico-chimique…….. 40
Principe actif…… 40
spect…….. 40
Identification…….. 40
A. Identification de benzathinebenzylpnicilline par infrarouge.……. 41
B. Identification de lécithine par CCM……..……. 42
C. Identification de benzathinebenzylpénicilline par colorimétrie.…… 42
D. Acidité et alcalinité……..... 43
E. Identification de benzathinebenzylpénicilline par HPLC…..…… 43
F. Teneur en eau (Karl Fischer)…….. 45
1.3. Produit fini……..…….. 46
I. Avant reconstitution …… 46
A. Aspect ……..…… 46
B. Dosage de Retarcilinre® par HPLC……..…. 46
C. Variation de poids…….. 49
II. Apres reconstitution……...……. 51
A. Aspect……..... 51
B. pH……... 52
C. dosage par iodométrie……... 52
. contrôle microbiologique……..… 53
2.1. contrôle de stérilité des milieux de culture…….. 53
2.2. contrôle de fertilité des milieux de culture…….. 53
2.3. contrôle de stérilité de Retarciline®……...….. 53
2.4. contrôle de fertilité de Retarciline®…….…….... 54
Conclusion……. 55

Liste des abréviations et symboles

OMS : organisation mondiale de la santé.

AMM : autorisation de mise sur le marché.

PA : principe actif.

ISO : international organisation for standardisation**.**

M UI : million unité internationale.

IM : intramusculaire.

ATC : anatomique, thérapeutique et chimique.

IR: infrarouge.

KF: Karl Fischer.

UV-VIS : ultra violet visible.

pH : potentiel d'hydrogène.

T : teneur.

ƛ : longueur d'onde**.**

% : pourcentage.

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

CCM : chromatographie sur couche mince.

PF : produit fini.

A : Aabsorbance.

T : transmitance.

I : Intensité de la lumière.

OX/RED: Oxydation/Réduction.

°C : degré Celsius.

V : volume.

Liste des tableaux

Tableau 1: Différents groupes des pénicillines……..…….15

Tableau 2: Composition de la Retarciline® 1.2 MUI…….…… 16

Tableau 3*:* Les différents types des appareils ; équipements ; et verreries utilisés……20

Tableau 4 *:* Les réactifs chimiques et biologiques utilisées……21

Tableau 5: gradient de la phase mobile A et la phase mobile B……..31

Tableau 6: Microorganismes d'essai pour les tests de croissance…….....38

Tableau 7 : Principales liaisons chimiques de benzathine benzylpénicilline identifiées par IR…….…...41

Tableau 8 : Résultats d'analyses d'HPLC de principe actif standard ……44

Tableau 9 : Résultats d'analyses d'HPLC de principe actif ……...44

Tableau 10 : Résultats d'analyses d'HPLC ……....45

Tableau 11 : Aspect de produit fini……..46

Tableau 12 *:* Résultats d'analyses d'HPLC de l'échantillon standard……46

Tableau 13: Résultats d'analyses d'HPLC de Retarciline®1.2MUI lot 51/1……...….47

Tableau 14 : Résultats d'analyses d'HPLC de Retarciline®1.2 MUI lot 51/2……....48

Tableau 15: Résultats d'analyses d'HPLC de Retarciline®1.2 MUI lot 51/3……49

Tableau 16: la variation de poids de lot 51/1……...…49

Tableau 17: poids moyen de produit fini 51/1……....50

Tableau 18: la variation de poids de lot 51/2……..…50

Tableau 19: poids moyen de produit fini lot 51/2……..51

Tableau 20: la variation de poids de lot 51/3……..51

Tableau 21: pois moyen de produit fini lot 51/3…….51

Tableau 22: Mesure de pH de la RETARCILLINE 1.2MUI……..….52

Tableau 23 : les volumes de la solution standard et la solution échantillon…….52

Tableau 24: les concentrations de la solution standard et la solution échantillon……..52

Tableau 25 : Contrôle de la fertilité après 14 jours d'incubation……...53

Tableau 26 : Test de stérilité du Retarciline® après 14 jours d'incubation…..54

Liste des figures

Figure 1 : Mise en forme de médicament**……...**4
Figure 2: Structure chimique du noyau β-lactame**…….....**14
Figure 3: Structure chimique des pénicillines**…….....**14
Figure 4: Structure chimique de benzathine bezylpénicilline**…….....**17
Figure 5: matière première (benzathine benzylpénicilline**)…….....**22
Figure 6: le produit fini (RETARCILINE® 1.2MUI)**……...**23
Figure 7: Système de la spectrométrie infrarouge**……**24
Figure 8 : schéma de la chromatographie par couche mince**……**25
Figure 9: spectrophotométrie UV –VIS**……...….**27
Figure 10: Système de spectrométrie UV –VIS**……...**27
Figure 11: Schéma d'une chaine d'HPLC**……...**29
Figure 12: pH mètre**…….....**33
Figure 13: dispositif de dosage iodométrie**……...**35
Figure 14: Spectre d'IR de benzathine benzylpénicilline **……**…39
Figure 15: Chromatogramme de couche mince**……**40
Figure 16: Spectre d'UV-VIS de benzathine benzylpénicilline**……..……**43
Figure 17: Spectre d'HPLC de solution standard**……..…...**44
Figure 18: Spectre d'HPLC de principe actif**……..……**44
Figure 19: Spectre d'HPLC**……..……**45
Figure 20: Spectre d'HPLC de solution standard de Retarciline®**……..…….**46
Figure 21: Spectre d'HPLC correspond à l'échantillon lot 51/1**……..**47
Figure 22: Spectre d'HPLC correspond à l'échantillon lot 51/2**…….…….....**48
Figure 23: Spectre d'HPLC correspond à l'échantillon lot 51/3**……..……**48
Figure 24: Comparaison de temps de rétention de référence et de Retarciline®**……**49

INTRODUCTION GENERALE

Le marché du médicament ne cesse de connaitre un essor grandissant et les industriels multiplient les gammes afin ‘une part augmenter leur bénéfice et d’autre part répondre à la demande des patients.

Plusieurs types de médicaments ont été produit jusqu’à maintenant, et des recherches se font pour répondre aux situations de résistance à une molécule donnée ou une maladie ou infection nouvelle.

Les médicaments injectables sont constitués de liquide en solution ou en suspension, ou d'émulsion, pouvant être administrés sous forme de piqûre (voie parentérale), le liquide injectable doit être non seulement stérile (exempt de microbes) mais en plus présenter un équilibre acidobasique convenable.

L'administration d'une substance injectable est variable selon, tout d'abord, la substance injectée (une substance huileuse n'est pas injectée en intraveineuse) et selon l'effet thérapeutique recherché. Ainsi, une injection intraveineuse a une action beaucoup plus rapide qu'une injection intramusculaire.

Parmi toute la panoplie de médicaments connus et ayant pouvez leur efficacité thérapeutique, figurent les antibiotiques.

Les pénicillines sont des antibiotiques très utilisées à travers du monde pour traiter les réactions antibactériennes.

Elles se présentent sous différentes formes (pénicillines V orales, pénicillines retard) et pénicillines G injectables permettent au patient de recevoir directement la dose complète prescrite sans dégradation au préalable par les composants du suc digestif.

La fabrication et le conditionnement de ce produit pharmaceutique nécessite des contrôles physicochimique et microbiologique à différentes étapes afin d’assurer une bonne qualité pharmaceutique.

L'objectif de notre étude est l'analyse physico-chimique et microbiologique d'une solution injectable ***RETARCILINE® 1.2MUI.***

Nous avons adopté un plan classique pour la structure de notre manuscrit:

Dans la première partie de ce manuscrit, nous rapporterons une étude bibliographique, consacrée à:

- Synthèse bibliographique sur les médicaments et le contrôle de la qualité.
- Notions de base sur les antibiotiques, dont il existe le médicament à analyser.

Dans la deuxième partie, nous rapporterons les résultats de notre travail :

Étude expérimentale, qui consiste à présenter une analyse physico-chimique et microbiologique de la solution injectable ***RETARCILINE 1.2MUI.***

Introduction

L'industrie pharmaceutique regroupe les activités de recherche de fabrication et de commercialisation des médicaments que ce soit pour la médecine humaine ou vétérinaire. Elle consiste l'une des industries les plus importantes économiquement au monde **[1].**

Par ailleurs, une grande rigueur a toujours été apportée aux contrôles des médicaments. En effet, ceux-ci doivent avoir une qualité définie en termes de sécurité d'emploi et de protection de la santé publique.

Donc nous intéressons à une meilleure compréhension du terme médicament ainsi qu'aux différents concepts touchant le contrôle et assurant sa qualité.

1. Définition d'un médicament

Un médicament, selon l'O.M.S. On entend par médicament toute substance ou composition présentés comme possèdent des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal, ou pouvant leur être administrée en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leur fonctions physiologies en exerçant une action pharmacologie, immunologie ou métabolique **[2].**

2. Mise en forme d'un médicament

Un médicament se compose d'un ou de plusieurs principe actifs et d'excipients. L'ensemble étant contenu dans un récipient **[3].**

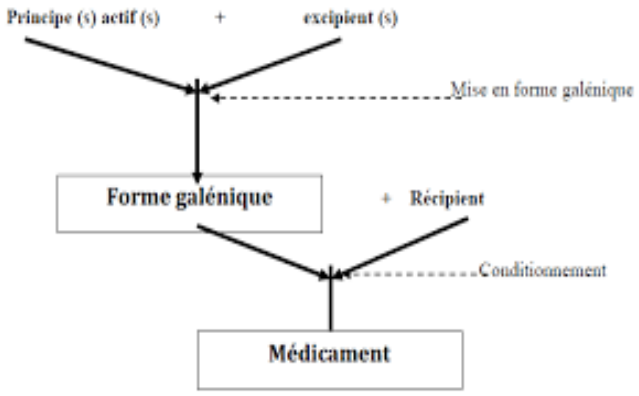


Figure1 : Mise en forme de médicament **[3].**

3. Compositions du médicament

3.1. Principe actif (PA)

Le principe actif d'un médicament est une substance susceptible de prévenir ou de faire cesser un trouble déterminé dans l'organisme. En d'autres termes, c'est l'élément possèdent les propriétés curatives et/ou préventives du médicament.

- Les substances obtenues par synthèse dont les caractéristiques chimiques sont bien définis (exemple : Acide acétylsalicrylique , caféine…etc).
- Les substances extraites à partir des produits naturels : Végétal, minéral ou biologique **[1].**

3.2. Excipient

L'excipient est une substance d'origine chimique ou naturelle qui facilitent l'utilisation du médicament mais ne présentent pas d'effet curatif ou préventif **[4].**

La fonction d'un excipient est de servir de vecteur (véhicule ou base) au principe actif ou d'entrer dans la composition du vecteur contribuant ainsi à certaines propriétés du produit telles que la stabilité, le profil bio pharma-celtique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient et la facilité de fabrication **[5].**

3.3. Additif

Divers additifs entrent dans la composition des médicaments pour différentes raisons, on en trouve les conservateurs antimicrobiens et les antioxydants, ils sont utilisées pour améliorer la conservation, donc augmenter la durée de vie des médicaments, soit

en retardant l'oxydation de principe actif et excipient ou soit réduisant la prolifération microbienne **[6].**

3.4. 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 **[3].**

4. Conditionnement

Cette étape est destinée à contenir le médicament et le protéger de son environnement extérieur, il existe deux types :

a. ***Conditionnement primaire :*** C'est l'élément indispensable du médicament car il joue un rôle de protection c'est-à-dire isole et conserve le médicament dans le temps. Il peut avoir un rôle fonctionnel en facilitant l'emploi du médicament.
b. ***Conditionnement secondaire :*** Il permet la manipulation et le transport du médicament (carton), ainsi qu'un rôle d'identification et d'information pour le malade **[1].**

5. Conservation et date de péremption

5.1. Conservation

La conservation c'est-à-dire la stabilité du médicament, doit se prolonger pendant tout le temps prévu par le fabricant pour sont utilisation. Les causes d'altération des médicaments sont essentiellement dues à:

Agents physiques : il s'agit surtout de la chaleur et/ou de la lumière qui peuvent dégrader les molécules. Pour y faire face, le médicament est conditionné dans un système opaque (verre coloré pour les liquides…).

Agents chimiques : il s'agit essentiellement de facteurs environnementaux. L'air, par exemple, oxyde le médicament. La vapeur d'eau favorise les phénomènes de déliquescence. Pour empêcher ces effets, les solutions sont protégées de l'air grâce à des flacons entièrement remplis ou remplis sous gaz inerte et les comprimés

effervescents sont conservés dans les tubes aluminium renfermant un gel de silice qui absorbe l'humidité **[7].**

5.2. Date de péremption

Tous les médicaments ont une date de péremption, c'est-à-dire une date limite d'utilisation au-delà de laquelle le produit doit être jeté. Cette date est portée en clair sur l'emballage, Lot et numéro de lot.

5.3. Lot et numéro de lot

5.3.1. Lot

C'est la quantité de médicaments qui sont fabriqués au cours d'un cycle donné de fabrication. La qualité essentielle d'un lot de fabrication est son homogénéité.

5.3.2. Numéro de lot

C'est la désignation (imprimée sur l'étiquette d'un médicament sous forme de chiffres et/ou de lettres) qui identifie le lot et permet de retrouver et de vérifier toute la série d'opérations, y compris celles de fabrication et de contrôle qui ont abouti à sa fabrication. Le numéro de lot permet la traçabilité du médicament **[8].**

6. Contrôle pharmaceutique

6.1. Qualité dans l'industrie d'un médicament

L'industrie pharmaceutique doit fabriquer et fournir des médicaments adaptés à l'emploi, répondant aux exigences du dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM) et n'exposant les utilisations à aucun risque lié à des carences en matière de sécurité, de qualité ou d'efficacité. La réalisation de cet objectif de qualité engage la responsabilité de la direction. De l'entreprise et le pharmacien responsable. Elle requiert la participation et l'engagement du personnel dans les différents départements et à tout les niveaux de l'entreprise, de ses fournisseurs et des distributeurs. Pour atteindre plus surement cet objectif, l'entreprise doit posséder un système d'assurance qualité, bien conçu, correctement mis en œuvre et effectivement contrôlé, système qui inclut le concept des pratiques de fabrication et ses règles de fonctionnement constitue le moteur de la qualité dans l'industrie pharmaceutique **[9].**

6.2. Définition de la qualité

Selon la norme ISO, la qualité est : « l'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites **[10].**

6.3. Contrôle

Le terme contrôle peut être utilisé dans le sens de vérification ou dans celui de maitrise. Le contrôle a le but de mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et de comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies. Le contrôle de qualité permet de déceler les différents types d'erreurs qui existent lors des déterminations d'analyses quantitatives effectuées dans un laboratoire **[11].**

- L'erreur peut être grossière, lorsqu'elle est due au non respect du protocole expérimental à une confusion de réactif, de matériel et à une faute de calcul ou de transcription du résultat. C'est le type d'erreur qui peut être évité. Sa fréquence dépond essentiellement du manipulateur (niveau de formation, cadence de son travail, etc..).
- L'erreur est aléatoire, lorsqu'elle se produit de façon fortuite ou accidentelle, elle est due à l'impression d'une mesure consécutive à la défaillance momentanée du manipulateur ou d'un appareil.
- L'erreur systématique, lorsqu'elle est due à un appareil déréglé un réactif de mauvaise.

6.4. But du contrôle de la qualité

Le contrôle de la qualité consiste à déceler les erreurs dépassants les limites jugées raisonnables, de manière à en corriger les causes ou à les prévenir. En général dans tout laboratoire de biologie, le contrôle permet de vérifier le fonctionnement des appareils, la manipulation ainsi que la précision et l'exactitude d'une technique d'analyse **[12]**. Le contrôle est effectué à des points clés (points critiques) évite d'engager inopportunément des frais couteux dans la suite des opérations. Le contrôle final détermine la conformité du produit aux objectif et a pour finalité de confirmer que le produit fabriqué localement ou importé répond aux normes homologuées et/ou aux spécifications légales et réglementaires qui le concerne et en particulier aux prescriptions de l'article 3 de la loi n 89-09 de 07 février 1989 (analyses de qualité ,

contrôle de conformité): Décrit exécutif n° 92-65 au 12 février 1992 relatif au contrôle de la conformité des produits fabriqués localement ou importés **[13].**

6.5. Contrôle de qualité d'un médicament

L'organisation mondiale de la santé s'occupe non seulement des aspects pharmaceutiques de la qualité des médicaments mais encore de l'innocuité et de l'efficacité intrinsèque de leurs principes actifs **[14].**

6.5.1. Contrôle physico-chimique

Il aura pour rôle de vérifier la structure de la molécule et d'établir les propriétés physiques et chimiques. Il a pour but ainsi de vérifier de la substance annoncée (analyses qualitatives, réaction d'identification les plus sélectives possibles) et s'assurer de son bon usage **[15].**

6.5.2. Contrôle microbiologique

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué et minimisent les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication **[16].**

Conclusion

Le marché du médicament a considérablement changé ces dernières années. Comme toute marchandise, il est entre dans la mondialisation. La libre circulation a apporté un certain nombre de dangers, notamment la perte de contrôle sur la qualité de certains produits aussi bien pour les matières premières que pour les produits finis. Ainsi donc une sécurité sanitaire des populations exige, un contrôle des substances pour usage pharmaceutique, constituants du médicament **.**C'est donc tout naturellement, qu'un contrôle de qualité réel et efficace.

Références bibliographiques

[1] : **AIACHA J.M, AIACHA S et RENOUXR,** << Initiation à la connaissance des médicaments>> Masson, Paris ,2ème édition ,**1995**, p.24.

[2] : **Article** 170<<loi 90-17 du 31 juillet 1990 modifiant et complétant la loi 85-05 du 16février 1985 relative à la protection de la santé >> Algérie p. 17. Consulté le : 27 Mars 2019

[3] :Talbert M ,Willoquet G. et **Labayle D**. **2001**,Guide pharmaco, Edition Lamar ,France ,p :25-44.

[4] : Article L.5111-1, loi n ° 2007-248 du 26 février 2007-art.3 JORF 27 février 2007. Consulté le : 21 avril 2019

[5] : Le Hir, 2000, Abrège, Pharmacie galénique, bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 7émé édition, Masson, Paris, p. 290.

[6] : ALAIS C, et LINDON G. **(1997)** .abrégé de biochimie alimentaire. Edition Masson, Paris, p. 284.

[7] :Z. Orphee , **2008.** <<contrôle analytique des médicaments à base d'albendazole et de Mébendazole vendus en Republic de Guéné-cas de la ville Conakry>>, thèse de doctorat université de Ghuinia, p. 13**.**

[8] : Agence française de sécurité sanitaire de produit de santé <<Bonnes pratiques de fabrication >>, Bulletin officiel N°2007/bis-fascule spécia , édition **2007**.

[9] : Anonyme. **(2001).**Pharmacopée Européenne. 4éme Edition .Strasbourg. Cedex France conseil de l'Europe, p. 54890.

[10] : Willya S.1996 le manager, la qualité et les normes ISO ,Edition Masson, Paris, p.148.

[11] : Sussland (W-A), 1996, le manager, la qualité et les normes ISO, Press polytechniques et université romandes, p.185.

[12] : **Vadeville 1983**, Gestion et contrôle de la qualité, Association Française de normalisation, Edition Masson, Paris, p. 134.

[13] : Anonyme 1997 : pharmacie, documentation juridique 2émé Edition, Alger, p. 258.

[14] : Anonyme 1998, Assurance de qualité des produits pharmaceutiques, volume 1.Genève : OMS, p. 1-2.

[15] : Albert L-Cœur A-Espagnol C. Et Lesieur D.1994, Chimie des médicaments, Tome 1, 1ème Edition Malwan, Paris, p. 234-324-403.

[16] : Scriban(1999). Biotechnologie. 5ème édition Tec&Doc. Paris, p. 920-927.

Introduction

Les antibiotiques (du grec anti : « contre », et bios : « la vie »). Ils sont des substances chimiques d'origines naturelles, synthétiques ou semi-synthétique n'agissent que contre les bactéries en bloquant leurs multiplications (effet bactériostatique) ou en les tuant (effet bactéricide) par différents modes d'action **.**Ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme cible**.**

1. Définition d'antibiotique

Le terme antibiotique fut introduit en 1941 par S. A. Waksman pour définir toute substance chimique produite par des microorganismes qui, à l'état de solution diluée a le pouvoir d'interférer avec la croissance d'un autre microorganisme. Cette définition excluait les préparations synthétiques et les substances antimicrobiennes produites par les plantes et autres organismes multicellulaires. La définition moderne du terme a été étendue à tout composé naturel (d'origine microbienne, animale ou végétale), de synthèse ou de demi-synthèse **[1].**Qui tue ou inhibe la croissance d'un micro-organisme **[2]** et qui n'a pas de toxicité pour l'hôte **[3**]. Ainsi qu'à des composés ayant une activité anti-tumorale **[1].**

2. Classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères dont: la nature chimique, le mécanisme et le spectre d'action.

La classification des antibiotiques en tenant compte du spectre antimicrobien ne parait pas être la meilleure en raison de l'évolution de la résistance bactérienne.

La classification chimique permet de classer les antibiotiques en groupes assez homogènes mais éloignés des objectifs cliniques. Enfin, celle basée sur le mécanisme d'action rend compte des propriétés particulières de chaque groupe d'antibiotiques **[4].** Nous pouvons distinguer plusieurs familles, elles-mêmes divisées en plusieurs classes à savoir, les aminoglycosides, les β-lactamines, les céphalosporines, les chloramphénicols, les glycopeptides, les lincomycines, les macrolides, les quinolones, les sulfamides, les tétracyclines, les antibiotiques peptidiques, les dérivés de dicétopipérazines, les peptides cycliques,…etc [**5].**

2.1. Les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi

Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interférent avec la synthèse de la paroi bactérienne, ils ont un indice thérapeutique élevé car leur cible n'existe pas dans les cellules eucaryotes **[6**].Les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi sont bactéricides et agissent seulement sur les germes en phase active de multiplication (phase exponentielle). Ainsi que les bactéries, en voie de croissance sont traitées par des antibiotiques qui ont comme cible la synthèse de la paroi, cette dernière est arrêtée. Les cellules continuent de croitre tandis que la paroi s'amenuise progressivement, elles s'allongent puis finissent par éclater en absence de barrière osmotique **[7].** Trois familles sont concernées : les β-lactamines, les glycopeptides et les fosfomycines.

2.2. β-lactamines

Les β-lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. La grande variété de leurs modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent leurs popularités et l'importance de leurs utilisations, seules ou en associations, depuis plus de 60 ans **[8].**

2.2.1. Structure

La structure de base des β-lactamines est le noyau azétidinone ou β-lactame qui contient la structure carbonyle lactame laquelle est indispensable pour l'activité des molécules. Sur cette structure est fixé un cycle penta-atomique saturé (péname), insaturé (pénème) ou hexaatomique (céphème). Le noyau azétidinone seul (β-lactamine monocyclique) peut être substitué et en fonction des substituants de l'atome d'azote, il est possible de distinguer les monobactames, les monocarbames, les monophosphatames ou autres hétérocycles, …etc. Actuellement du fait de la complexité de ce groupe, il est dénommé monolactame **[3].**

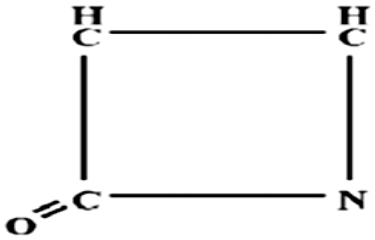


Figure 2: Structure chimique du noyau β-lactame **[2].**

Le noyau de base est le cycle le β-lactame. Il s'agit d'une amine interne cyclisée, les antibiotiques de cette famille sont bactéricides.

En générale, les betalactamines agissent sur la paroi bactérienne et se répartissent à divers groupes :

2.3-Pénicillines

Les pénicillines appartiennent à la famille chimique des β -lactamines. Chez les pénicillines, le cycle beta lactame (amide interne provenant de l'élimination d'une molécule d'eau entre un groupe acide et un amide de la même molécule) est associé à un cycle thiazolidine formant un cycle péname. Il peut être substitué par acylation sur sa fonction aminée pour donner naissance à des dérivées qui se distinguent par leur pharmacocinétique, leur stabilité, le spectre antibiotique et la résistance aux β-lactamases. La fonction carboxylique peut être transformée en carboxylate (ce qui conduit à décomposés plus solubles) et permet l'obtention d'esters **[9].**

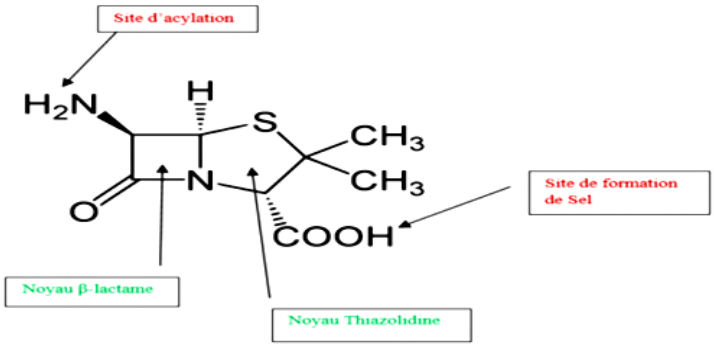


Figure 3: Structure chimique des pénicillines **[9].**

Selon la nature des substituants de l'acide 6-aminopénicillanique, on distingue six groupes de pénicillines :

Tableau 1 : Différents groupes des pénicillines **[9].**

Groupes	*Caractéristiques*
Pénicillines A	Appelées aussi aminobenzopénicillines (ampicilline, amoxicilline), sont acidorésistantes et présentent un spectre élargi. l'amoxicilline a une très bonne biodisponibilité par voie orale.
Pénicillines G	Sensible aux pénicillinases, elle est détruite par le suc gastrique (acidosensible), qui rendrait sa biodisponibilité très médiocre, est uniquement administrée par voie injectable.
Pénicillines M	On trouve dans ce groupe l'oxacilline et la cloxacilline qui sont acido-résistantes.
Carboxy-penicilline	Réservée à l'usage hospitalier qui, outre le spectre de l'ampicilline, agit sur les entérobactéries hospitalières et les Pseudomonas ticarcilline–sensibles.
Amidino-penicilline = pivmecillinam	
Pénicillines V	Elle est stable en milieu acide gastrique (acido-résistante).

3. Présentation de médicament à analyser

RETARCILINE1.2MUI est un antibiotique semi synthétique sous forme de poudre et solvant pour suspension injectable intramusculaire à base de Benzathinebenzylpénicilline (benzathine pénicilline G).

La Retarciline 1.2 MUI, poudre et solvant pour suspension injectable (IM) est indiqué chez les adultes, adolescents, enfants et nouveau nés dans le traitement et la prophylaxie des infections suivantes due à des bactéries sensibles aux pénicillines **[10].**

4. Composition de la RETARCILLINE 1.2 MUI

Le tableau suivant représente la composition de notre médicament :

Tableau 2: Composition de la Retarciline 1.2MUI **[11]**

Forme de médicament	*Principe actif*	*Excipients*
Suspension par voie injectable	Benzathine benzylpénicilline	Flacon de poudre : • Carmellose sodique • Sodium citrate (E331) • Povidone(E1201) Ampoule de solvant: • Eau pour préparations injectables Composition de l'enrobage : • Phospholipides de soja • Polysorbate (E433) • Présence de sodium

4.1 Principe actif

La benzathine benzylpénicilline est une forme de pénicilline également appelée benzathine pénicilline G.

Cette dernière forme avec la benzylpénicilline (pénicilline G) un sel très peu soluble dans l'eau qui peut être utilisé en injection IM, afin d'être lentement hydrolysée dans le muscle en libérant la pénicilline G **[11].**

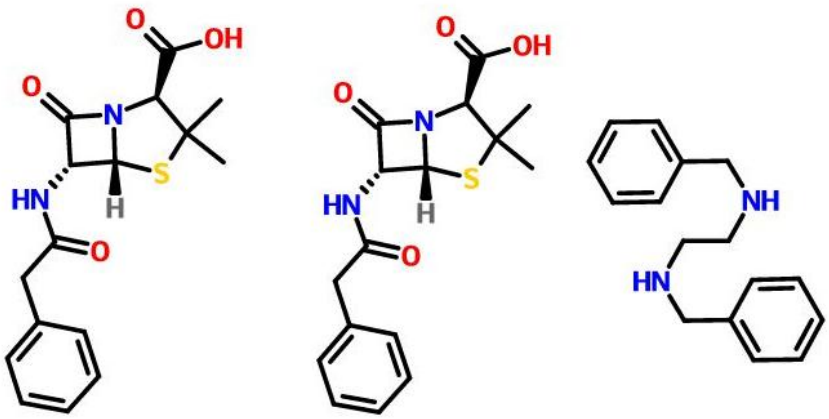


Figure 4: Structure chimique de benzathine bezylpénicilline **[12].**

5. Classification ATC [11]

- Anti-infectieux généraux à usage systémique
- Anti-bactériens à usage systémique
- Bétactamines : pénicillines
- Pénicillines sensibles aux bétalactamases

*6. Indications thérapeutiques [*11]

C'est un antibiotique qui appartient à la famille des pénicillines.

Il est utilisé dans :

- La prévention des rechutes du rhumatisme articulaire aigu,

-Le traitement de la syphilis et de maladies apparentées.

7. Contre indications [11]

- Allergie connue aux pénicillines
- Allergie céphalosporines
- Ne pas injecter Voie inter- veineuse

8. Posologie

La poudre doit être préalablement dissoute avec le solvant fourni. La suspension obtenue est injectée par voie intramusculaire profonde. L'injection est éventuellement répétée tous les 8 ou 15 jours. Le médicament est libéré progressivement dans le sang et une injection unique est active pendant au moins une semaine **[11].**

Conclusion

L'usage des antibiotiques a permis de soigner des maladies infectieuses mortelles et aussi de prolonger l'espérance de vie. On peut dire que l'efficacité des antibiotiques est d'abord du à sa composition.

Références bibliographiques

[1] : Paolozi L, Cloud L.J, **(2015).**Biologie des procaryotes et leurs virus. Elution Dunod. Paris. p : 450.

[2] :Madigan M, Martinko J,**(2007).**Biologie des micro-organismes 11ème édition. Pearson.Paris .p. 274.

[3] : Bryskier A. (1999). Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques. Edition Marketing. Paris, P. 40.

[4]: Walsh C, (2000). Molecular mechanism that confer antibacterial drug resistance. Nature p. 775-781.

[5]: Smaoui S, (2010). Purification et caractérisations du biomolécules à partir de micro organismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat de génie des procédes et environnement. Université de Toulouse. Institué national polytechnique, p. 5.

[6]:Prescott,Willey, Sherwood ,Woolvertan ,(2013). Microbiologie. 4ème édition. Bruxelles, p. 832.

[7]:Meyer A , Deiana J, Bernard A,(2008). Cours de microbiologie général 2ème édition . Doin. Paris .p.248.

[8]: Cavallo D.J, Fabr R,Jehl F,Rapp C,Jarrabé E,(2004).UMC maladies infectieuses. Volume 1. Isue. p. 129-200.

[9]:Etienne R.N, Faure S, (2015). Du mécanisme d'action des médicaments à la thérapeutique. Edition Masson . Paris. p. 334.

[10] :www.groupe saidal.dz. Consulté le 1 mai 2019.

[11] :www.le figaro.fr. Consulté le 20 avril 2019.

[12] :www.fengchen groupe.com. Consulté le 20 avril 2019.

Introduction

Le présent travail a pour objectif de réaliser le contrôle physico-chimique et microbiologique de la RETARCILINE® 1.2 MUI de la matière première et de produit fini afin de déterminer sa conformité par rapport aux normes de la pharmacopée européenne 7émé édition. La partie expérimentale a été réalisée aux différents laboratoires de l'unité SAIDAL ; à savoir, le laboratoire de contrôle de qualité physico-chimique, le laboratoire de microbiologie dans le but de contrôler la qualité du médicament testé et aussi de maitriser le bon fonctionnement des appareils et leur fiabilité.

1. Cadre d'étude

Notre étude a été réalisé a l'unité ANTIBIOTICAL SAIDAL (Médéa) ; le mois d'avril 2019.

Cette unité fabrique et contrôle environ 71 produit pharmaceutiques sous différentes formes ; telles que : gélules ; comprimés ; sirops solutions et suspensions buvables ; poudre pour solutions injectables ; pommades dermiques et ophtalmique et les solutions injectables.

2-Matériels

2.1. Appareils ; équipements et verreries

L'ensemble des appareils ; équipements utilisés lors de la réalisation des différents tests sont reportés sur le tableau 3.

Tableau 3*:* Les différents types des appareils ; équipements utilisés.

Appareils/ équipements /verreries	*Marque*
HPLC	Empower tm 3 sofware
Ultrason	Ficher scientific FB15052
pH-mètre	Metrohm 827 ph lab
Une balance électronique de précision	Sertorius
Dissolutest	SOTAX AT7 SMART
Spectrophotomètre IR	PERKIN ELMER
Agitateur	MY MAG BLAKLINE

2.2. Réactifs chimique et biologique

L'ensemble des réactifs et biologiques utilisés lors de réalisations des différents tests sont reportés sur tableau suivant :

Tableau 4 *:* Les réactifs chimiques et biologiques utilisées

Réactifs chimique	*Réactifs biologiques*
Hydroxyde de sodium (1 N)	Désinfectant (benzalkonium ;alcool éthylique ;alcool isopropylique)
Eau distillée	Eau péptoné
Chloroforme	Bouillon trypticase soja
Acide phosphomolybdique	
Ethanol anhydre	
Lécithine	
Thiocyanate de potassium	
Nitrate de cobalt	
Phosphate monopotassique	
Acide phosphorique	
Méthanol	
Phosphate disodique	
Hydrogénophosphate de potassium	
Acide phosphorique(18N)	
Hydroxyde de potassium (10N)	
Iode	

3. Echantillonnage

3.1 Matière première (le principe actif)

Notre étude apporté sur une seule production de benzathine benzylpénicilline ; ou on a prélevé les échantillons à partir d'un seul lot ; à l'aide d'une sonde métallique ; on fait notre prélèvement de principe actif (benzathine benzylpénicilline) d'une manière aléatoire dans différents points à partir des sachets de double emballages de papier aluminium contenant 5kg .ces sachets sont présentés dans un fut en carton

solide de 25 kg. On rassemble les différentes prélèvements dans les flacons en verre de 100 ml et on met dans chacun environ 10g .on remplit 20 flacons de poudre de benzathine benzylpénicilline ; puis on les éthiquettes.ces flacons sont acheminées vers le service de contrôle physico-chimique et microbiologique. L'échantillonnage se fait au niveau de service de contrôle et inspection.



Figure 5 : matière première (benzathine benzylpénicilline)

3.2 .Produit fini (RETARCILINE®)

Les prélèvements destinés au contrôle microbiologique et physico-chimique ont été effectués sur un produit fini (sous forme de poudre) qui porte un numéro de trois lots (51/1 ; 51/2 et 51/3).

Tous les prélèvements ont été effectués dans des conditions stériles et à température Ambiante.

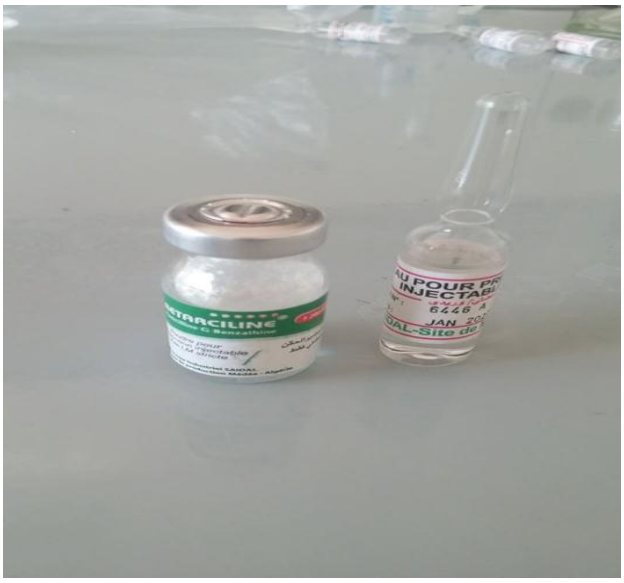


Figure 6: le produit fini (RETARCILINE® 1.2MUI)

4 .Contrôle physico-chimique

Afin d'assurer le contrôle de la qualité physico-chimique de la matière première du principe actif (Benzathine benzylcilline), des différents excipients et du produit fini (RETARCILINE ®1 200 000 UI), plusieurs essais sont exigés par la pharmacopée européenne 7ème édition, à savoir : les essais liés à la nature et dosage du principe actif (caractères), les essais d'identification, le dosage de diverses impuretés et les essais pharmaco techniques (pH, l'aspect, identification par IR , colorimétrie, dosage par HPLC, teneur en eau (K_F)…etc.).

4.1. Principe actif

Le contrôle physico-chimique du principe actif (pénicilline G) a été effectué sur trois lots en l'occurrence: le lot 51/1(20 flacons), le lot 51/2(20flacons) et le lot 51/3 (20 flacons).

4.1.1. Aspect

Contrôle simple de la poudre par l'œil nu.

4.1.2. Identification

A : Identification par infrarouge

Le rayonnement infrarouge (IR) fut découvert en 1800 par Frédéric Wilhelm Hershel. Ces radiations localisées au-delà des longueurs d'onde dans le rouge, sont situées entre la région 0,8 µm à 1000 µm. Il est arbitrairement divisé en 3 catégories, le proche infrarouge (0,8 à 2,5 µm soit 12500- 4000 cm-1), le moyen

infrarouge (2,5 à 25 µm soit 4000-400 cm^{-1}) et le lointain infrarouge (25 à 1000 µm soit 400-10 cm^{-1}). Dès 1924, on s'est aperçu que l'énergie du rayonnement infrarouge moyen coïncidait avec celle des mouvements internes de la molécule**[1],** Ainsi, la relation entre l'absorption d'un rayonnement IR par une molécule et sa structure moléculaire est mise en évidence Même si les régions du proche IR et du lointain IR ont suscité un certain intérêt, l'utilisation de la spectroscopie moyen IR reste la plus adaptée pour l'élucidation de la composition moléculaire d'un composé. Les Spectromètres IR sont construits à partir d'éléments principaux, avec quelques différences au niveau des matériaux utilisés) dans la figure7 ou de leur montage selon le domaine de l'IR exploité et selon le type d'interaction entre la matière et le rayonnement **[2].**



Figure 7: Système de la spectrométrie infrarouge **[2].**

B : Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption ; la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants ; qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou aluminium.

Après l'échantillon ait déposé sur la phase stationnaire ; les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant **[3].**

Mode opératoire

La méthode détermination du contenu en lécithine se fait par CCM. (Plaque CCM gel de silice).

Phase mobile A : chloroforme/méthanol/eau : (65v/25v/10v).

1. Préparation de la solution de l'aérosol (vaporisateur) :

On pèse 20g d'acide phosphomolybdique dans une fiole de 100ml ; en dilue avec l'éthanol anhydre et on agite.

2. *Préparation de la solution de référence :*

On Pèse 75mgde la lécithine standard dans une fiole de 25 ml et on dissolve avec 10ml de chloroforme puis en dilue à 25ml avec même solvant ; on agite pendant 5min et on laisse reposer pendant 20 minutes

3. Préparation de la solution a examinée :

On Pèse 7.5g de la substance a examinée dans 10 ml de chloroforme ; on agite pendant 5 min et on laisse reposer pendant 20 minutes.

On active la plaque CCM avant l'injection pendant 30 min à 110 °C avant utilisation

On applique10µl de la solution de référence et celle de l'échantillon sur la plaque CCM et elle se développe sur un parcours de ¾ de la plaque.

On Sèche la plaque sur un courant d'air puis on la vaporise avec la solution d'acide phosphomolydique et on sèche à une température de 110°C pendant 10 min la tache obtenue avec la solution à examiner dont correspondre à celle de la substance de référence.

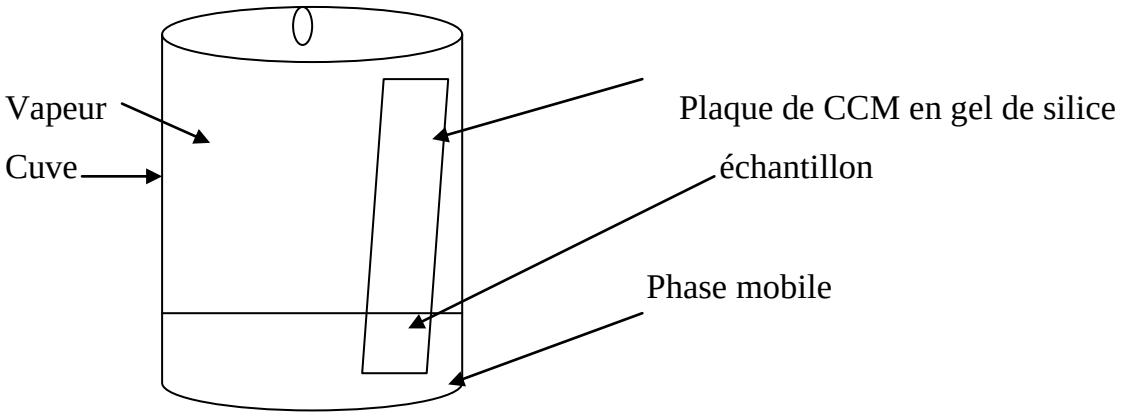


Figure8 : schéma de la chromatographie sur couche mince.

C : Colorimétrie

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert.
La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier.

Lorsqu'une lumière d'intensité passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité de la lumière transmise est donc inférieure à L'absorbance de la solution est définie comme suit :

A= log10 Io/I

A=-logT

Avec T (transmittance) =Io /I

L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que L'intensité transmise est faible.

Domaine UV-visible de la spectrophotométrie

Un soluté coloré ou chromophore absorbe la lumière visible (longueurs d'onde comprises entre 400 et 800 nm). On parle de spectrophotométrie ou plus simplement de colorimétrie. Certaines solutions absorbent dans l'ultraviolet (longueurs d'onde inférieures à 380 nm), on parle alors de spectrophotométrie UV.
Le principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre UV est illustré dans le schéma suivant :

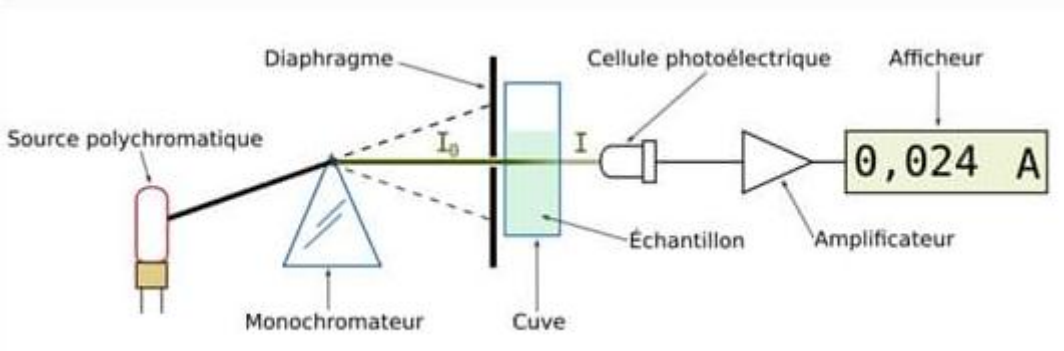


Figure 9: spectrophotométrie UV -VIS

Un spectrophotomètre mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée. Un dispositif monochromateur permet de générer, à partir d'une source de lumière visible ou ultraviolette, une lumière monochromatique, dont la longueur d'onde est choisie par L'utilisateur. La lumière monochromatique incidente d'intensité traverse alors une cuve contenant la solution étudiée, et l'appareil mesure l'intensité de la lumière transmise. La valeur affichée par le spectrophotomètre est l'absorbance à la longueur d'onde étudiée.
Le spectrophotomètre peut être utilisé pour mesurer de manière instantanée une absorbance à une longueur d'onde donnée ou pour produire un spectre d'absorbance (spectrophotomètre à balayage). Dans ce dernier cas, le dispositif monochromateur décrit en un temps court l'ensemble des longueurs d'onde comprises entre deux valeurs choisies **[4].**



Figure 10: Système de spectrométrie UV -VIS

Mode opératoire

1. Préparation de la solution a examinée :

On Dissolve 0.1g de la substance à examiner dans environ 5 ml chloroforme ; on agite pendant 2 minutes puis on laisse reposer pendant 1 minute.

On agite de nouveau 2 minutes ; on filtre et on ajoute au filtrat 0.1 g de thiocyanate de potassium ; 1g de nitrate de cobalt et on agite.

2. Préparation de la solution blanc :

On Prend environ 5 ml de chloroforme ; on agite pendant 2 minutes puis laissez reposer pendant 2 minutes.

On Agite de nouveau 2 minutes ; on filtre et ajoutez au filtrat 0.1g de thiocyanate de potassium 0.1g de nitrate de cobalt et on agite.

D : *Etude d'acidité et alcalinité*

A 0.50g de benzathine benzylpénicilline ; on ajoute 100 ml d'eau exempte de dioxyde de Carbone et on agite pendant 5 minutes .on filtre sur un filtre de verre fritté .a 20 ml du filtrat ; on ajoute 0.1 ml de solution de bleu de bromothymol .

E : Chromatographie performance à haute pression (HPLC)

La chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) ou plus fréquemment l'abréviation anglaise HPLC (*High pressure liquid chromatography*) (1990) est une technique de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules présentes dans un mélange, elle permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification **[5].**

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

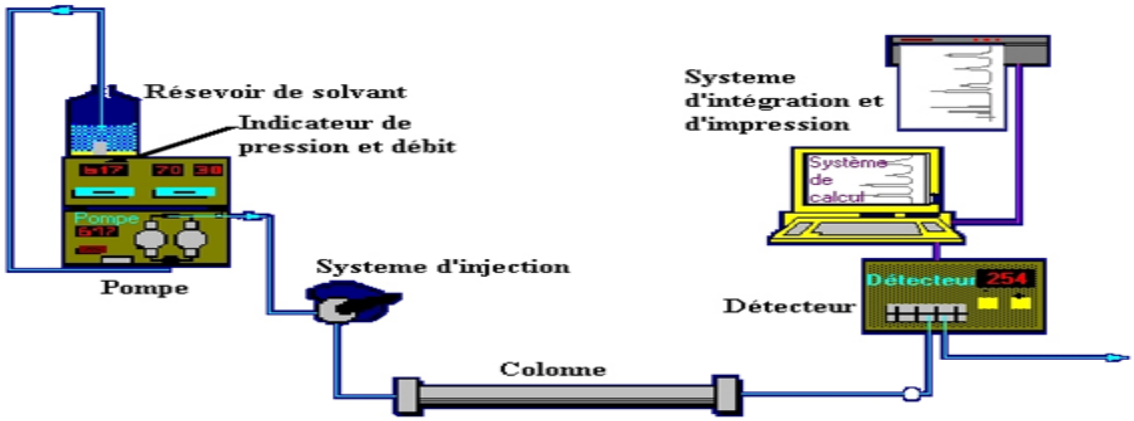


Figure 11 : Schéma d'une chaine d'HPLC **[5].**

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les « grains » sont de très petite taille). Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. En effet, pour un même volume de phase stationnaire la surface d'échange augmente si les « grains » qui la composent sont de diamètre plus petit. Les pics obtenus et plus étroits donc la résolution est améliorée, le seuil de Détection est également plus bas la combinaison de ces attributs rapidité et résolution élevées conduit à l'appellation « haute performance».Les phases mobiles utilisées sont des mélanges d'eau et d'un solvant organique miscible ou des combinaisons de solvants organiques miscible entre eux. Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit « gradient » ou « élution graduée » (en opposition au mode « isocratique », pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de la séparation). Les résultats obtenus sont sous la forme d'un chromatogramme ; qui retrace respectivement la concentration de chaque constituant en fonction du temps, dont un pic représente une molécule.

Mode opératoire

Substances apparentées chromatographie liquide on prépare les solutions extemporanément ; on soumet aux ultrasons (pendant environ 2minutes) pour dissoudre les échantillons. On évite tout échauffement inutile pendant la préparation des échantillons.

1. Préparation de la solution à examiné :

On dissout 70 mg de benzathine benzylpénicilline dans 25 ml de méthanol et on complète à 50 ml avec une solution a 6.8 g/l de phosphate monopotassique et 1.02 g/l de phosphate disodique

2. Préparation de la solution témoin (a) :

On dissout 70 mg de bnzathine benzylpénicillin dans 25 ml de méthanol et on complète a 50 ml avec une solution a 6.8 g/l de phosphate monopotassique et 1.02 g/l de phosphate disodique.

3. Préparation de la solution témoin (b) :

On prélève 1 mL de solution témoin (a) et on complète a 100 mL avec la phase mobile A.

Conditions opératoires

- Colonne : dimensions : l =0.25 m ; ϕ =4mm
- Phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé postgreffe pour chromatographie (5µm).
- Température : 40°C
- Phase mobile :

Phase mobile A : on mélange 10 volumes d'une solution de phosphate monopotassique R a 34g/L ajustée a pH 3,5 avec de l'acide phosphorique, 30volumes méthanol et 60 volumes d'eau.

Phase mobile B : on mélange 10 volumes d'une solution de phosphate monopotassique à 34 g/L ajustée a pH 3,5 avec de l'acide phosphorique 30volumes d'eau et 60 volumes de méthanol.

Tableau 5: gradient de la phase mobile A et la phase mobile B

Intervalle (min)	**Phase mobile A (pour cent v/v)**	**Phase mobile B (pour cent v/v)**
0-10	75	25
10-20	75 → 0	25 → 100
20-55	0	100
55-70	75	25

- Débit : 1mL/min.
- Détection : spectrophotomètre a 220nm.
- Injection : 20 µL.

F : Teneur en eau (test de KARL Fischer)

La méthode de KARL FISCHER est une méthode chimique de mesure de la teneur en eau d'un échantillon par titrage, elle base sur les réactions oxydation réduction OX/RED.

4. 2 Produit fini

- ✓ ***Produit avant reconstitution***

A : Aspect de la poudre

L'aspect du la poudre est estimé par un simple contrôle visuel des flacons.

B : Dosage de Retarciline® par HPLC

B .1: Dosage de pénicilline G par HPLC

Le dosage se fait par chromatographie liquide à haut performance.

Conditions opératoires :

- ✓ Régime isocratique
- ✓ Colonne : dimensions 0,25 m *4,6 mm
- ✓ Phase stationnaire : Gel de silice octadécylsilylé pour chromathographie (5µm).
- ✓ Débit : 1ml/min
- ✓ Longueur d'onde : ƛ =220nm
- ✓ Volume d'injection : 20µL
- ✓ Température : 40°C
- ✓ Phase mobile : Une solution de phosphate monopotassique à 34 g/ ajustée à pH=3,5 avec de l'acide phosphorique-méthanol-eau (55v/35v/20v)

Préparation des solutions :

On prépare des solutions extemporanément, on soumet à l'ultrason (pendant environ de 10 min) pour dissoudre les échantillons.

On évite tout échauffement inutile pendant la préparation des échantillons.

1. Préparation de la solution standard pénicilline G :

On dissout 70 mg de benzathine benzylpénicilline standard de référence dans 25 mL de méthanol et on complète à 50 mL avec une solution 06,8g /L de phosphate monopotassique et 1,02 g/L de phosphate disodique.

2. Préparation de la solution à examiner (PF):

On dissout 70mg de RETACILLINE poudre pour suspension injectable dans 25mL de méthanol et on complète à 50 mL avec une solution à 6,8 g/L de phosphate monopotassique et 1,02 g/L de phosphate disodique.

C : Variation de poids

Mode opératoire

On prend 20 flacons de Retarcilline1.2MUI, on pèse chaque flacon plein puis on le vide le flacon et le pèse.

- ✓ ***Produit après reconstitution***

A : Aspect de la suspension

L'aspect du la suspension est estimé par un simple contrôle visuel des flacons.

B : pH

Le pH d'une solution reconstituée est le cologarithme décimal de l'activité de la solution en ions hydronium. Sa détermination est effectuée par mesure de la différance de potentiel entre 2 électrodes judicieusement choisies plongent dans la solution à examiner.

Mode opératoire

Préparation de la solution reconstituée :

Faire la reconstitution de 4 flacons injectable de Retarciline, on mélange dans un bécher et on introduit l'électrode pour déterminer directement le pH.

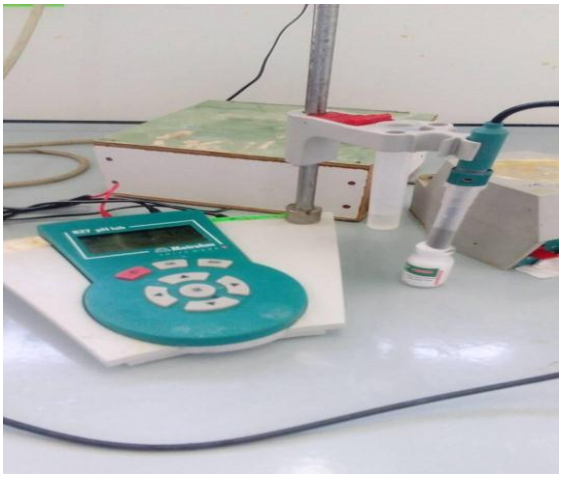


Figure 12 : pH mètre

C : Dosage de principe actif par iodométrie

Préparation de solution tampon (pH=6) :

- 2g de $KHPO_4$
- 8g de KH_2PO_4
- 1000ml eau distillée

1. Préparation de la solution standard :

On pèse 125 mg de pénicilline G potassique standard de référence et on dilue à 100 mL avec la solution tampon.

2. Préparation de la solution échantillon :

Faire la constitution de 5 flacons injectables de RETARCILLINE, on mélange dans un même récipient ; puis on utilise une seringue c'est aigu on prélève un volume de la suspension injectable équivalent à 300000UI de pénicilline G et on dilue quantitativement avec de l'hydroxyde de sodium 1N (1mL de mélange dissolution reconstitué dilué dans 100 mL).On pipete 4 mL dans un erlenmayer puis on procède à l'analyse par iodométrie.

3. ***Préparation de solution blanche :***

Faire la reconstitution de 5 flacons injectable de RETARCILLINE ®on mélange dans un même récipient, puis en utilisant une seringue est une aigu on prélève un volume de la suspension injectable équivalent à 300000UI de pénicilline G et on dilue quantitativement avec la solution tampon numéro 1(pH=6) (1mL de mélange dissolution reconstitué dilué dans 100 mL), on pipete 4 mL dans une erlenmeyer .

Dosage iodométrique:

-On prélève V_0 = 25 mL de la solution de diiode à doser que l'on place dans un bécher de 50 mL muni d'un petit barreau aimanté mobile.

- On remplit une burette graduée avec la solution de thiosulfate de sodium de concentration Cr en ajustant à la valeur zéro.

- On place cette burette graduée sur le bécher contenant la solution brune de diode. Le bécher est lui même placé sur le plateau d'un agitateur magnétique qui permet de faire tourner le petit barreau aimanté et d'agiter ainsi la solution tout au long du dosage.

- On ajoute progressivement la solution de thiosulfate de sodium incolore à la solution brune de diode présente dans le bécher. La couleur de la solution passe progressivement du brun à la jaune pale.
- On ajoute alors quelques gouttes d'une solution d'amidon qui forme avec le peu de diode restant une espèce chimique de couleur bleue
- On termine l'addition progressive de la solution de thiosulfate de sodium jusqu'à disparition complète de la couleur blue. Cela se produit lorsqu'on a versé un volume total V_{Iech} .

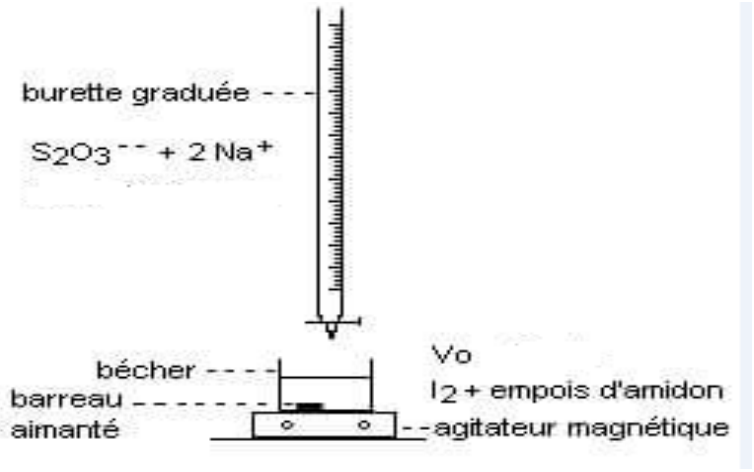


Figure 13 : dispositif de dosage iodométrie.

5. Contrôle microbiologique

5.1. Objectif de ce contrôle

Vérifier l'absence de contaminations bactérienne et fongiques dans les préparations obligatoirement stériles.

5.2. Contrôle de stérilité des milieux de culture

A fin de vérifier la stérilité des milieux de culture qui utilisés dans notre expérimentation, nous procédons à leur incubation pendant 14 jours à déférentes températures.

- 20 °C à 25°C pour soja bouillon.
- 30°C à 35°C pour thioglycolate .

Après 14 jours d'incubation, ces milieux ne doivent présenter aucun développement microbien (absence de trouble). Dans le cas contraire, le milieu n'est pas sterile.les milieux sont rejetés et l'essai doit être recommencé avec un nouveau lot de milieux.

5.3. Contrôle de fertilité des milieux de culture

Cet essai renseigne sur la fertilité des milieux prépares, et assure qu'ils ne sont pas périmés. On ensemence 1 ml dans chaque flacon contenant les milieux bouillon Thioglycolate et bouillon soja .leur incubations durent 14 jours. On ensemence 1 ml de dilution différente en fonction des souches.

5.4. Teste de stérilité du RETARCILLINE®

On a effectue l'essai de stérilité du RETARCILLINE dans une chambre stérile qui contient une hotte à flux laminaire horizontal. A l'intérieur de la chambre stérile, on porte obligatoirement une tenue spéciale et des gants de protection. On allume la hotte, puis on place les dispositifs de filtration ou encore appelé steritest (contient un filtre d'une porosité ≤ 0,45µm) dans la pompe péristaltique.

-Apres, on perce aseptiquement le bouchon du flacon de produit à analyser (20 flacons pour le produit fini et un flacon de 6 g pour la matière première)

- on dissout le contenu de chaque flacon avec l'eau péptoné à 0,1%

-il s'assure que le produit totalement dissout

- On enlève le stéridilitor et on place l'unité stérisolutest

-On aspire le contenu de chaque flacon à travers les filtres 0,45 micro de l'unité stérisolutest, on rince les filtres avec le liquide de rinçage et on détermine le volume de l'eau péptoné.

-On place les bouchons jaunes en dissous des unités sterisoltest

-On introduit les milieux de culture dans les deux vases de filtration de l'unité stérisolutest.

-On place les clamps d'entrées de l'unité sterisolutest.

-On coupe les tubulures à l'aide de ciseaux.

-On fixe les tubulures dans les filtres évent des vases.

-On identifie et on inscrit sur les deux vases :le numéro de lot ,le nom de produit et la date d'analyse.

5. 5. Incubation

On incube les milieux de cultures pendant 14 jours à différentes températures.

20 °C à 25°C pour soja bouillon.

30°C à 35°C pour thioglycolate.

5.6. Lecture

On observe quotidiennement au cours de la durée d'incubation les milieux de culture pour déceler des signes macroscopiques de prolifération microbienne, qui se manifestent par une turbidité des milieux.

Si le produit à examiner induit une turbidité qui rend difficile l'observation d'une contamination microbienne, on prélève 1 ml de chaque milieu et le transfert dans de nouveau flacon contenant le milieu puis on incube aux mêmes températures pendant 4 jours.

Si n'est pas observé des signes de croissance microbienne ; le produit à examiner est déclaré conforme.

C'est une croissance microbienne est observée le produit ne satisfait pas à l'essai.

L'essai de produit à examiner est déclaré non valable si une ou plusieurs conditions citées si dessous sont réunies :

- les résultats de l'air et surface ainsi que des équipements (hotte et /ou pompe péristaltique) sont non conformes.
- une croissance microbienne est observée pour le témoin négatif
- après identification des micros organismes, il apparait que cette (cette) espèce peut entre attribuer au matériel ou à la technique utilisée.

1) Si l'essai est déclaré non valable, et il répète sur le même nombre que le premier essai.

2) Si des signes de croissances microbiennes ne sont pas observées, le produit est déclaré conforme.

3) si une croissance microbienne est observée le produit est déclaré non conforme.

5.7. Test de fertilité du RETARCILINE® (challenge test)

A la fin de période d'incubation et après la lecture des résultats

On ensemence les milieux de culture par des germes de références en utilisant au moins une souche aérobie et une souche anaérobie et une levure ou moisissure (tableau 5) la quantité injectée doit être de 100UFC/ml environ.

On incube le milieu de thioglycilate à 30 °C -35°C pendant 48 heures pour les bactéries.

On incube le milieu de bouillon de soja à 20°C-25°C pendant 48 heures pour les levures et les moisissures.

5.8. Interprétation des résultats

. L'essai de stérilité n'est pas valide si l'un ou les deux milieux de culture restent stériles (absence de croissance) au-delà des 48ème heures, car il y'a présence des substances à activité antimicrobienne qui n'a pas été éliminée, ce qui implique une répétition de l'essai en respectant les étapes de la méthode de validation.

Tableau 6: Microorganismes d'essai pour les tests de croissance

Microorganismes		**Incubation**	
Espèces	**Souches appropriées**	**Température (°C)**	**Durée maximale**
Type : bactéries aérobies		**Pour tous les aérobies**	
Staphylococcus aureus	ATCC 6538	30-35	3 jours
Bacillus subtills	ATCC 6633		
Pseudomonas aéuginosa	ATCC 9027		
bactéries anaérobies		**Pour tous les anaérobies**	
Clostridium sporogenes	ATCC 19404	30-35	3 jours
Type : levures et moisissures		**Pour toutes les levures et moisissures**	
Candida albicans	ATCC 10231	20-25	5 jours
aspergillus niger	ATCC 16404		

Références bibliographique

[1]: Mayé p. (2003).Les infrarouges en électroniques, Paperback.

[2]:Roggo Y. (2010). Spectroscopie proche infrarouge pour l'industrie à gros alimentaire : détermination de la qualité de la bétrave sucrèiére par spectroscopie proche Paperback.

[3]: Boucheloukh hadjira. Cours méthodes d'analyses chromatographiques université de Jijel.

[4]: www.fr.wikipedia.org/wiki/Spéctrophotométrie consulté le 25 avril 2019.

[5]: Morrison. B . (2014) . Chromatography. Shimadzu, s. LC world talk new letter.

1. Contrôle physico-chimique

La comparaison de tous nos résultats s'est faite avec la norme pharmacopée de 1997.

1.1. Principe actif

1.1.1. Aspect

L'observation visuelle de l'aspect de RETARCILLINE®1.2 MUI a montré que la poudre est Blanche. Cela veut dire que notre principe actif est propre parce qu'il garde son aspect intact.

1.2. Identification

A : Identification de benzathine benzylpénicilline par infrarouge

Les résultats du spectromètre IR ont été utilisés pour confirmer les groupes fonctionnels présents dans le principe actif (benzathine benzylpénicilline) sont représentés comme suit :

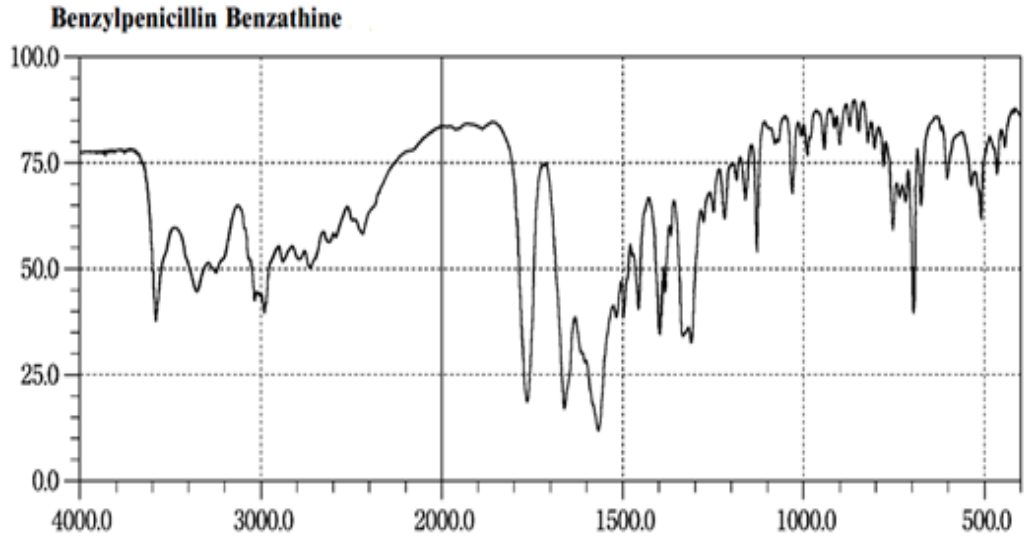


Figure14 : spectre d'IR de benzathine benzylpénicilline

Tableau 7 : Principales liaisons chimiques de le benzathine benzylpénicilline identifiées par IR

Type de liaison	Nombre d'onde (cm^{-1})
N-H (amide)	***3590***
Groupement lactame	***1760-1730***
Cycle thiasolidine	***1780-1770***

Le spectre d'IR :

Présente une bande caractéristique à 3590 cm^{-1} d'étirement NH du groupe amide, C'est la région comprise entre 1600 et 1800 cm^{-1} qui s'avère la plus intéressante avec les éléments suivants :

-le groupement lactame dont la fréquence d'absorption se situe entre 1760 et 1730 cm^{-1} quand il est isolé, présente une vibration caractéristique entre 1780 et 1770 cm^{-1} quand il est accolé au cycle thiasolidine dans les pénicillines.

-La fonction amide extra cyclique présente un υCO amide le plus souvent compris entre 1700 et 1650cm^{-1}

-La fonction carboxyle est repérée par la bondeυCOO- soit du carboxyle, soit du carboxylate s'il s'agit d'un sel de Na ou K.

B: Identification de lécithine par CCM

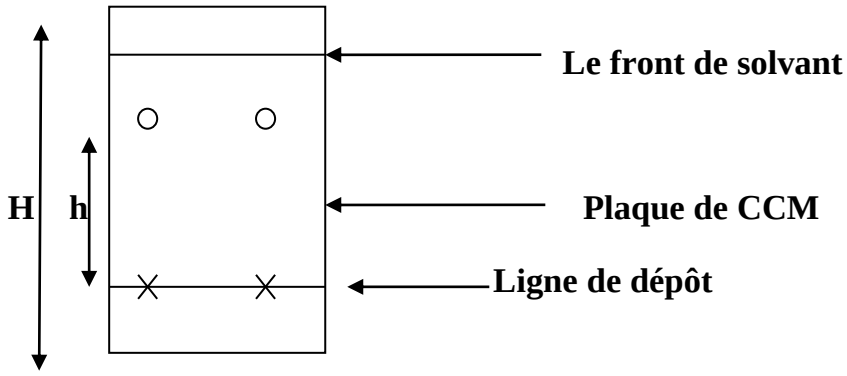


Figure 15 : Chromatogramme de couche mince

On compare la hauteur de tache obtenue de produit et la tache de référence,

On observe une tache de même hauteur de migration donc il est le même

Constituaient. Pour être plus claires : on calcule le rapport frontal R_f pour chaque tache.

$$Rf = \frac{h}{H}$$

H : hauteur entre la ligne de dépôt et le front de solvant

h: hauteur de la tache obtenue

R_f : le rapport frontal

On conclue que la tache obtenue c'est le lécithine.

C : Identification benzathine benzylpénicilline par colorométrie

Les résultats du spectromètre d'UV-VIS ont été utilisés pour déterminer la densité optique de principe actif (benzathine benzylpénicilline) sont représentés comme suit :

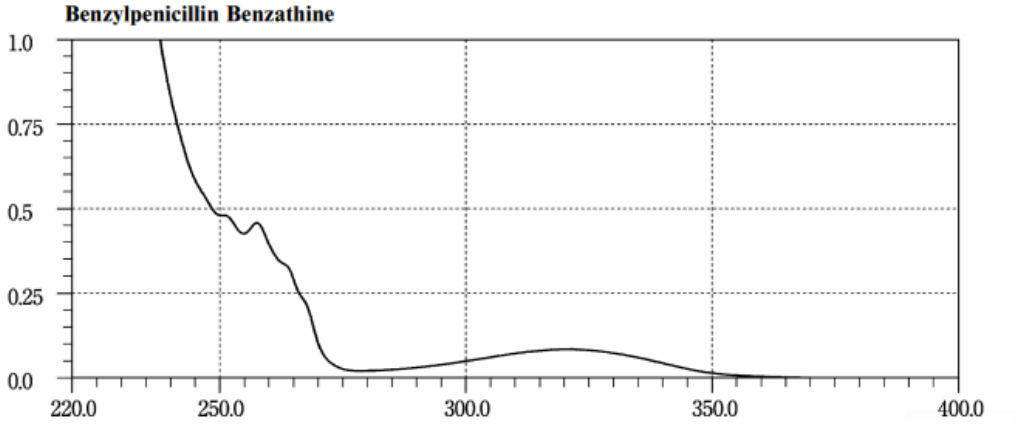


Figure 16 : le spectre d'UV-VIS de benzathine benzelpénicilline

Selon le spectre UV-VIS, on constate que la maximale absorption est environ dés 200 nm ce qui reflète l'existence d'un cycle de benzène ou

C-O ou C-N cela indique qu'on est en présence de benzathine benzelpénicilline.

C'est surtout le cycle aromatique présent dans le groupement R acyclant le 6-APA qui est responsable de l'absorption dans la zone de l'ultraviolet.

D : Acidité et alcalinité

La solution est verte .le virage de l'indicateur ou bleu ne nécessite pas plus de 0.1ml hydroxyde de sodium (Na OH) 0.02M

V_{NaOH}=0.1 ml ≤0.02ml

Donc le résultat et conforme

E : Identification de benzathine benzylpénicilline par HPLC

E .1. Identification de benzathine benzylpénicilline standard par HPLC

La figure ci-dessous représenté le spectre d'HPLC de la solution standard de principe actif.

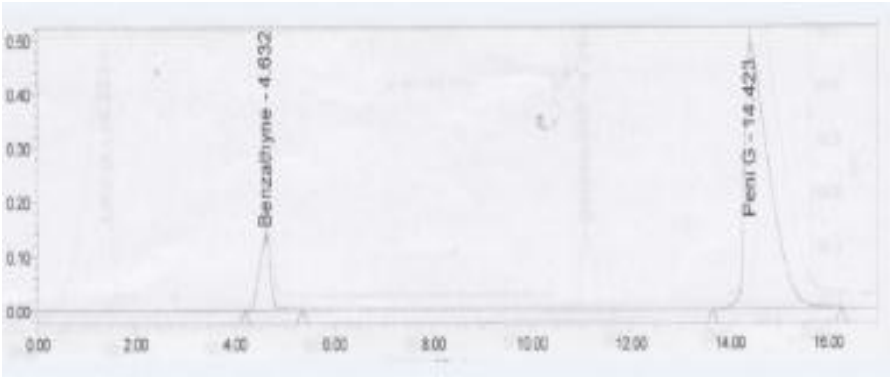


Figure 17 : spectre d'HPLC de solution standard

Tableau 8 : Résultats d'analyses d'HPLC de principe actif standard

Echantillon	Temps de rétention	aire	% aire
Pénicilline G	14,423	17052238	87,94
benzathine	4,632	2112008	11,20

E.2. Identification de benzathine benzylpénicilline par HPLC

La figure ci-dessous représenté le spectre d'HPLC de benzathine benzylpénicilline.

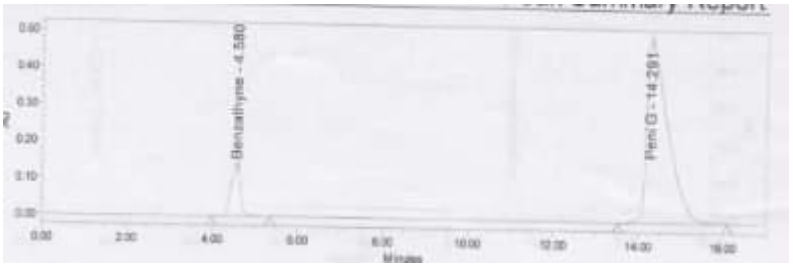


Figure18 : spectre d'HPLC de benzathine benzylpénicilline

Tableau 9 : Résultats d'analyses d'HPLC de benzathine benzylpénicilline

Echantillon	Nom	Temps de rétention	aire	% aire
Benzathine benzylpénicilline	Benzathine	4,580	16163995	87,88
	benzylpénicilline	14,291	2082267	11,32

-Le temps de rétention de la pénicilline G dans la solution à examinée correspond au temps de la pénicilline G dans la solution standard.

- Le temps de rétention de la benzathine dans la solution à examinée correspond au temps de la benzathine dans la solution standard.

E.3. Identification des impuretés C par HPLC

La figure ci-dessous représenté le spectre d'HPLC des impuretés C.



Figure19 : spectre d'HPLC

Tableau 10 : Résultats d'analyses d'HPLC

Pic	Temps de rétention	Aire	% aire
Pénicilline G Na	14,582	15577712	87,94
Benzathine	4,597	2112008	11,20
Impurtés C	33,700	161244	0,86

F : Teneur en eau (test de KARL FISCHER) :

P =102,1

v =1,86ml

Fat =4,0670

$$K_f = \frac{4,0670 \times 1,86 \times 100}{102,1} = 7,41\%$$

Le paramètre de KARL FISCHER est 7,41% donc il est entre 5% et 8% donc le résultat est conforme.

1.2. Produit fini

- ✓ ***Avant reconstitution***

A : Aspect

Tableau 11 : Aspect de produit fini

Lot 51/1	***Lot 51/2***	***Lot 51/3***
Poudre blanche	Poudre blanche	Poudre blanche

B : dosage de Retarciline ® par HPLC

B.1. Dosage de la pénicilline G standard par HPLC

La figure ci-dessous représente le spectre d'HPLC du produit standard (pénicilline G)

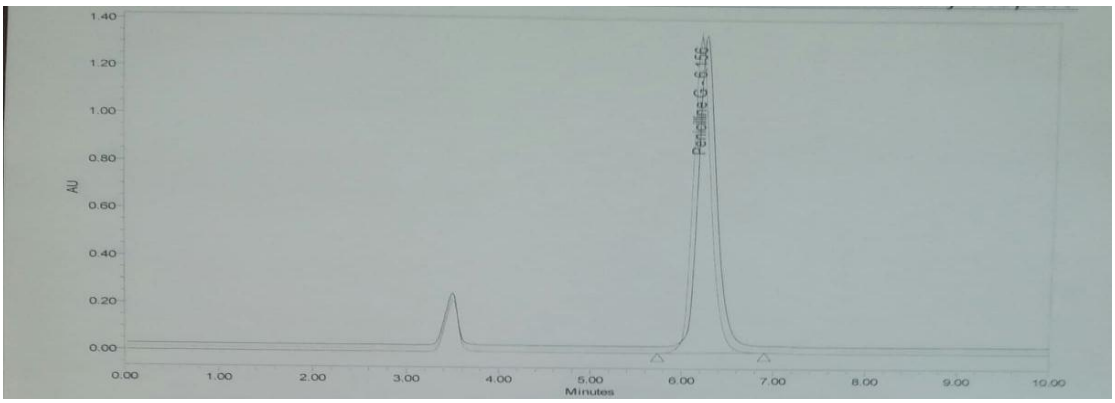


Figure 20*:* spectre de solution standard de la RETARCILINE®

Tableau 12 : Résultats d'analyses d'HPLC de l'échantillon standard

	Temps de retention	Aire	% aire
Retarciline standard	6,156	18309546	100,00

B.2. Dosage de Retarciline ®(lot 51/1) par HPLC :

La figure ci-dessous représente le spectre d'HPLC de Retarciline® (lot 51/1)

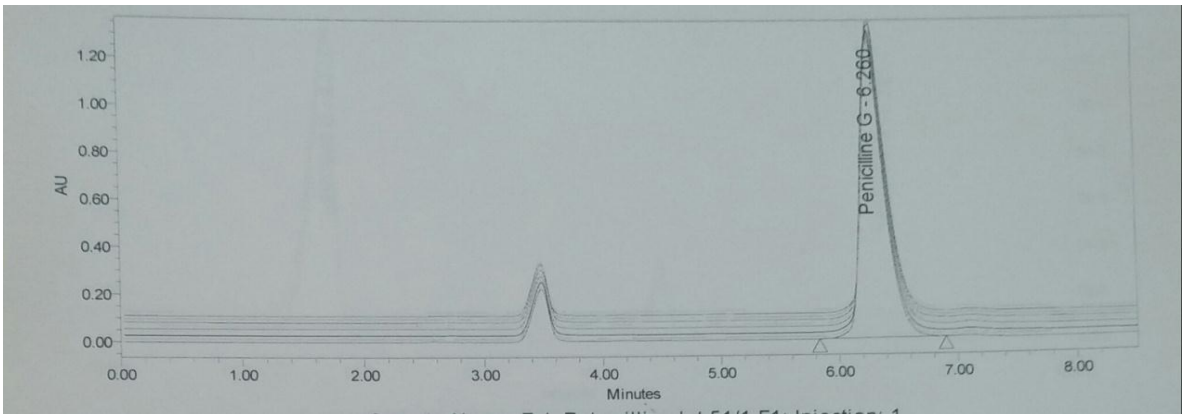


Figure 21 : Le spectre d'HPLC correspond à l'échantillon Lot 51/1

Tableau 13: Résultats d'analyses d'HPLC de Retarciline® 1.2MUI lot 51/1

	Temps de rétention	aire	% aire
Ech de Retarciline lot 51/1	6,260	17941482	100,00

Le temps de rétention de la pénicilline G dans la solution à examiner correspond au temps de la pénicilline G dans la solution standard.

B.3. Dosage de Retarciline® (lot 51/2) par HPLC :

La figure ci-dessous représente le spectre d'HPLC du Retarciline ®(lot 51/2).

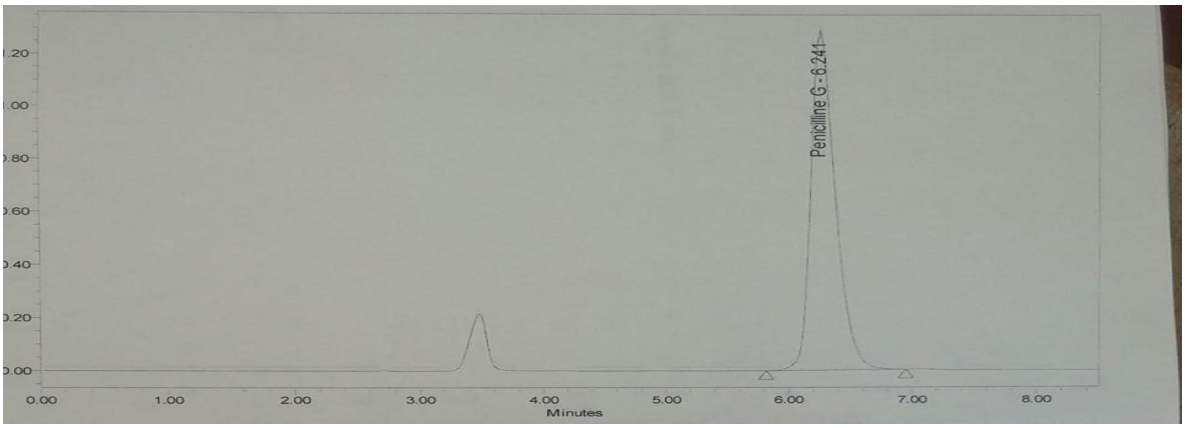


Figure22 : Le spectre d'HPLC correspond à l'échantillon Lot 51/2

Tableau 14 : Résultats d'analyses d'HPLC de Retarciline ®1.2 MUI lot 51/2

	Temps de rétention	Aire	% aire
Ech de Retarciline lot 51/2	6,241	17722751	100,00

Le temps de rétention de la pénicilline G dans la solution à examiner correspond au temps de la pénicilline G dans la solution standard.

B.4. Dosage de Retarciline1.2 MUI (lot 51/3) par HPLC :

La figure ci-dessous représente le spectre d'HPLC du Retarciline®1.2MUI (lot 51/3).

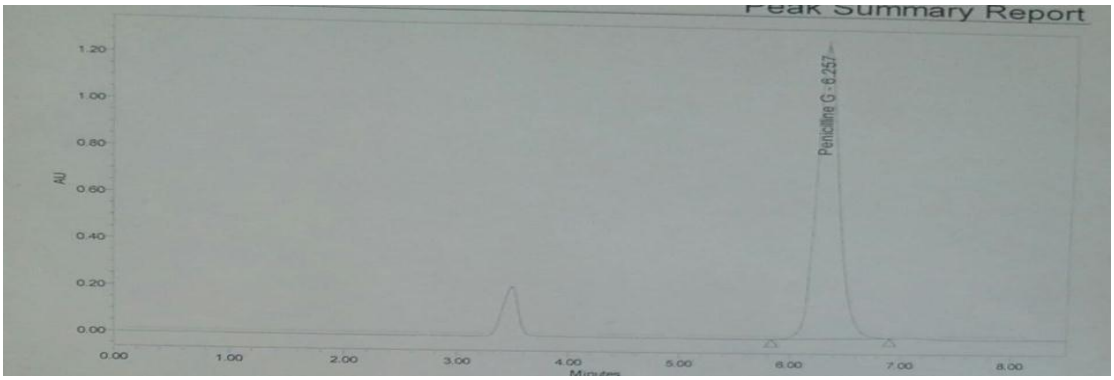


Figure 23 : Le spectre d'HPLC correspond l'échantillon à Lot 51/3

Tableau 15: Résultats d'analyses d'HPLC de Retarciline®1.2 MUI lot 51/3

	Temps de rétention	aire	% aire
Ech de Retarciline lot 51/3	6,257	17645321	100,00

Le temps de rétention de la pénicilline G dans la solution à examiner correspond au temps de la pénicilline G dans la solution standard.

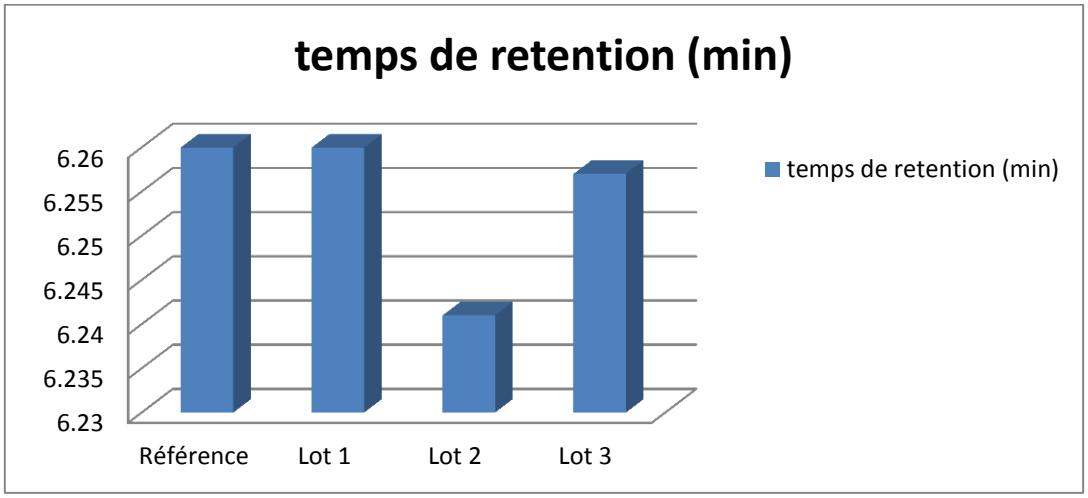


Figure24 : Comparaison de temps de rétention de référence et de RETARCILINE®

C : Variation de poids

Tableau 16: Variation de poids de lot 51/1

Pleins	***Vides***	***Variance de poids(g)***
20,2673	19,1733	1,094
20,1218	19,0537	1,0681
20,1234	19,0639	1,0595
20,0424	18,9646	1,0778
20,1124	19,0479	1,0645
20,1766	19,1134	1,0632
20,293	19,2159	1,0771
20,1876	19,1111	1,0765
20,0723	19,0039	1,0684
20,3456	19,2755	1,0701
20,2491	19,034	1,2061
20,1996	19,1354	1,0642
20,369	19,3021	1,0669
20,3726	19,292	1,0806
20,1237	19,0481	1,0756
20,2754	19,1968	1,0786
20,2105	19,1452	1,0653
20,1518	19,0825	1,0693
20,2247	19,1536	1,0711
20,0995	19,0337	1,0658

Tableau 17: Poids moyen de produit fini 51/1

Poids de Retarciline(g)	N	Poids moyen (g)
402,82	20	1,078

Tableau 18: Variation de poids de lot 51/2

Pleins	***Vides***	***Variance de poids (g)***
20,2673	19,1733	1,094
20,1218	19,0537	1,0681
20,1234	19,0639	1,0595
20,0424	18,9646	1,0778
20,1124	19,0479	1,0645
20,1766	19,1134	1,0632
20,293	19,2159	1,0771
20,1876	19,1111	1,0765
20,0723	19,0039	1,0684
20,3456	19,2755	1,0701
20,2491	19,034	1,2061
20,1996	19,1354	1,0642
20,369	19,3021	1,0669
20,3726	19,292	1,0806
20,1237	19,0481	1,0756
20,2754	19,1968	1,0786
20,2105	19,1452	1,0653
20,1518	19,0825	1,0693
20,2247	19,1536	1,0711
20,0995	19,0337	1,0658

Tableau 19: Poids moyen de produit fini lot 51/2

Poids de Retarciline(g)	N	Poids moyen (g)
405,80	20	1,047

Tableau 20: Variation de poids de lot 51/3

Pleins	Vides	Variation de piods
20,2566	19,2203	1,0363
20,0108	18,9635	1,473
20,0471	18,993	1,541
20,2979	19,2566	1,413
20,3324	19,2501	1,823
19,941	18, 892	1,49
19,9086	18,8871	1,215
20,1089	19,508	1,581
20,215	19,1888	1,0262
20,4133	19,3791	1,0342
19,9624	18,9301	1,0323
19,9561	18,9	1,0561
20,3782	19,3269	1,0513
20,0273	18,9866	1,0407
20,2763	19,2416	1,0347
19,8874	18,7669	1,1205
20,0717	19,0209	1,0508
20,1855	19,1701	1,0154
20,0276	18,974	1,0536
20,299	19,2473	1,0517

Tableau 21: Poids moyen de produit fini lot 51/3

Poids de Retarciline(g)	***N***	***Poids moyen***
384,82	20	1,048

- ✓ ***Apres reconstitution***

A : Aspect

L'aspect de la suspension est une solution homogène blanche ou sensiblement blanche. Donc le résultat et conforme.

B : pH

Tableau 22: Mesure de pH de la RETARCILLINE 1.2MUI

Echantillon	51/1	51/2	51/3
Température (°c)	20,9	21,3	21,3
pH	6,1	6,3	6,3

Le pH de 3 échantillons est entre 4,0 à 6,5 dans l'intervalle de température entre 4,1 et 22 °c.

C : Dosage par iodométrie

Tableau 23 : les volumes de la solution standard et la solution échantillon

	$V_{std(2Na+,S2O3)}$	$V_{ech(2Na+,S2O3)}$	V_{Ilot1}	V_{Ilot2}	V_{Ilot3}
1ere essai	***20,6***	***20,9***	***4,1***	***3,8***	***4***
2eme essai	***20,6***	***20,9***	***4,2***	***3,9***	***3,9***

Concentration de thiosulfate de sodium ($2Na^+$,S_2O_3)

C=0.1mol/l

Le dosage de la solution d'iode par la solution de la thiosulfate de sodium.

$$C_{(2Na+,S2O3)}\ V_{(2Na+,S2O3)} = C_{I2}V_{I2}$$

$$C_{I2} = \frac{C\ (2Na+,S2O3)\ V(2Na+,S2O3)}{VI2}$$

Tableau24: les concentrations de la solution standard et la solution échantillon

	C_{echI2}		$C_{std(2Na+,S2O3)}$	
Lot1	***0,5***	***0,49***	***0,5***	***0,49***
Lot2	***0,53***	***0,55***	***0,52***	***0,52***
Lot 3	***0,52***	***0,53***	***0,51***	***0,52***

La concentration de Retarciline® dans la solution standard est équivalant à consternation de Retarciline ®dans la solution échantillon.

2. Contrôle microbiologique :

2.1. Contrôle de stérilité des milieux de cultures :

Apres 14 jours d'incubation, les milieux Thioglycolate et trypticase soja pour le témoin se sont révélés stériles. Aucune croissance microbienne, changement de couleur, ni un milieu trouble, ne sont décelés.

2.2. Contrôle de Fertilité des milieux de cultures :

Tableau 25 : Contrôle de la fertilité après 14 jours d'incubation

Germes	Nombre de germes ensemencés (UFC/ml)	Milieu de culture	observation
B. subtilus	142	Trypticasesoja	Trouble dans tous les Flacons. Ce qui nous indique une croissance microbienne abondante
C. albicans	105	Trypticasesoja	
S. aureus	196	Thioglycolate	
C.sporogens	126	Thioglycolate	

Le contrôle des propriétés nutritives des milieux de cultures utilisées, montre que tous les flacons sont troubles et changent de couleur par rapport au témoin stérile. A partir du 2ème jour d'incubation. Ceci nous permet de dire que les milieux sont de bonne qualité nutritive.

2.3. Contrôle de stérilité du Retarciline® :

Dans ce test de stérilité, on a obtenu un résultat satisfaisant : absence de croissance microbienne dans les deux unités stéritest.

Les deux milieux sont homogènes, pas de changement de couleur.

Ce qui explique que le contrôle de stérilité de Retarciline® est bien fait. Ces résultats sont conformes à la norme, ceci nous permet de dire que ce médicament est de bonne qualité (stérile).

Tableau 25 : Test de stérilité du Retarciline ®après 14 jours d'incubation

Milieu de culture	Témoin	Observation
Thioglycolate	**Stérile**	Absence de croissance microbienne
bouillon soja	**Stérile**	

Ce résultat nous permet de dire que le médicament a totalement disparu avec les rinçages dans l'unité steritest.

Elle ne reste donc aucune trace.

2.4. Contrôle de fertilité de Retarciline® :

Afin de vérifier la stérilité de ce médicament dans les deux unités stéritest, nous avons ensemencé les deux milieux de culture contenant dans ces unités chacun avec deux souches différentes :

-Milieu de culture Soja bouillon =B. subtilus + C. albicans.

-Milieu de culture Thioglycolate = S. aureus + C. sporogens.

L'incubation a été observée sur une période de 14 jours.

Après seulement 2 jours d'incubation, on a constate un trouble dans les deux unités stéritest ensemencées par rapport aux témoins.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de cette étude est de faire une analyse physico-chimique et microbiologique de ***RETARCILINE®1.2 MUI*** produit par le groupe ANTIBIOTICAL SAIDAL MEDEA.

Après avoir effectué les tests physico-chimiques et microbiologies pour vérifier les critères de conformité de ce médicament, les conclusions suivantes peuvent être données:

- Les résultats du spectromètre IR ont été utilisés pour confirmer les groupes fonctionnels présents dans le principe actif.

✓ Une bande caractéristique à 3590 cm^{-1} d'étirement **NH** du groupe amide. C'est la région comprise entre 1600 et 1800 cm^{-1} qui s'avère la plus intéressante avec les éléments suivants :

✓ le groupement lactame dont la fréquence d'absorption se situe entre 1760 et 1730 cm^{-1} quand il est isolé, présente une vibration caractéristique entre 1780 et 1770 cm^{-1} quand il est accolé au **cycle thiasolidine** dans les pénicillines.

✓ La fonction amide extra cyclique présente un ***υ*CO** amide le plus souvent compris entre 1700 et 1650cm^{-1}

✓ La fonction carboxyle est repérée par la bonde ***υ*COO**$^{-}$ soit du carboxyle, soit du carboxylate s'il s'agit d'un sel de **Na**$^{+}$ ou **K**.$^{+}$

- L'Identification de lécithine par CCM,

✓ Nous avons observé une tache de même hauteur de migration, donc c'est le même Constituant.

✓ D'après les calculs réalisés, on conclut que la tache obtenue c'est le composé lécithine.

- Les résultats obtenus du spectromètre d'UV-vis ont été utilisés pour déterminer la densité optique de principe actif (benzathine benzylpénicilline). Nous avons constaté que, l'absorption maximale est environ dés 200 nm ce qui reflète l'existence d'un cycle de **benzène** ou les fonctions (**C-O**. **C-N**).

- ✓ Nous notons qu'avec la présence de ces bandes, le produit résultant est le ***benzathine benzelpénicilline***.
- ✓ En revanche. C'est surtout le cycle aromatique présent dans le groupement R acyclant le 6-APA qui est le responsable de l'absorption dans la zone de l'ultraviolet.

- Le dosage d'acidité et d'alcalinité du principe actif répond aux normes
- Les résultats d'identification de ***benzathine benzylpénicilline*** par HPLC montrent que ce médicament répond aux normes et ne présente aucune insuffisance ou défaut et il est très pur.
- Les paramètres de contrôle microbiologique se concordent également et donnent des résultats cohérents.

En outre,

Plusieurs d'autres travaux ont dévoilé l'équivalence des médicaments produits en Algérie et les médicaments importés, mais l'étude statistique a montré les difficultés que trouve le médicament produit localement pour s'imposer dans le marché national.

Pour ce fait, on propose comme perspectives de ce modeste travail, la recherche de :

- ❖ Mécanismes d'amélioration de la qualité des études de nos étudiants, futurs cadres de cette industrie dynamique.
- ❖ Stratégie de perfectionnement de Recherche & Développement dans l'industrie pharmaceutique.
- ❖ Procédures convenables pour le marketing de nos produis.
- ❖ Stratégies de coordination entre : médecins, pharmaciens, caisses d'assurance sociale dans le but d'encourager la consommation de nos produits.