

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Biochimie Appliquée  
Présenté par :

*BOUCHIOUANE Imane & GHALI Chahira*

#### *Thème*

*Contrôle physico-chimique et microbiologique d'un produit  
pharmaceutique (PIMAG)*

Soutenu le : 30 /06 / 2018

Devant le jury composé de :

*Nom et Prénom*

*Grade*

M. BOURNINE L.

MCA

Univ. de Bouira

Président

Mme. MEDBOUA C.

MAA

Univ. de Bouira

Promotrice

M. CHERGUI A.

MAA

Univ. de Bouira

Examineur

Année Universitaire : 2017/2018

# REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la foi et la volonté afin d'arriver à la finalité de ce travail.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à **Mme. MEDBOUA Chafia**, pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent également à **Mr. YEKHLEF Karim** l'encadreur industriel pour ses bonnes explications qu'ils ont éclairé le chemin de la recherche, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordé.

Nos profonds remerciements vont également à tous Les personnels du laboratoire contrôle qualité GSK. Sans exception, notamment **Mme. BERBICHE Dalila**, **Mr. SEDIRI Mohamed** et **Mr. BELKADI Sid Ali** pour la finesse de leurs attitudes sur le plan aussi bien humain que scientifique.

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait **Mr. BOURNINE Lamine** en étant président du jury et **Mr. CHERGUI Achour** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

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.

# DEDICACE

Je tiens à exprimer ma plus grande reconnaissance à Dieu le tout puissant pour m'avoir accordé la vie, la santé, la paix de l'âme et la patience afin d'arriver là où j'en suis maintenant.

Je dédie ce travail :

A la mémoire de mon père

A la lumière de mes jours, Maman que j'adore, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, celle qui a toujours sacrifié pour me voir réussir, que Dieu te procure bonne santé et longue vie.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence en ce jour. A mon frère Mohamed Amine et mes sœurs Nour-El-Houda, Zohra et son mari, je dédie ce travail dont le grand mérite pour leurs conseils, aides, et encouragements.

A mon oncle Djamel, sa femme et son fils Seif -El-Dine.

A tous les membres de ma famille.

A mon cher ami et binôme Chahira et à toute sa famille, pour tous les moments de joie et de peine qu'on a partagés ensemble tout le long de notre vie universitaire.

A mes meilleures amies et sœurs qui ont toujours été présentes à chaque moment important de ma vie.

A mes camarades de promotion.

Du fond du cœur, un énorme merci à toute l'équipe de laboratoire GSK sans exception.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer.

Imane

# DEDICACE

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

A Allah. Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé dans le bon chemin Je vous dois ce que je suis devenue Louanges et remerciements Pour votre clémence et miséricorde.

A mes Parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

Ceux qui partagent ce bonheur avec moi : Mes frères, Yousef, Soufian, Ferhat, Oussama.

Mes proches sans exception. Les membres de la famille GHALI et la famille HAMDACHE.

A mon cher binôme et amie Imane et leur famille.

A tout mes amis.

A mes camarades de promotion.

Le personnel du laboratoire contrôle qualité NAB. GSK.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis

Merci.

Chahira

# SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## **Chapitre I : Les médicaments**

I.1.La formulation d'un médicament.....3

I.2.Dénomination du médicament.....3

I.2.1. Le nom chimique d'un médicament.....3

I.2.2.Dénomination commune internationale .....3

I.2.3. Le nom de marque d'un médicament.....4

I.3.Les différentes formes médicamenteuses. ....4

I.3.1.Formes pharmaceutiques destinées à la voie orale .....4

I.3.2.Formes pharmaceutiques destinées à la voie parentérale .....4

I.3.3.Formes pharmaceutiques destinées à la voie rectale .....4

I.3.4.Formes pharmaceutiques destinées à la voie vaginale.....4

I.3.4.Formes pharmaceutiques destinées à la voie oculaire .....5

I.3.5.Formes pharmaceutiques destinées à la voie respiratoire.....5

I.3.6.Formes pharmaceutiques destinées à la voie cutané .....5

I.4.Principales étapes de la fabrication d'un médicament... .....5

I.4.1. La phase de conception. ....5

I.4.2. La phase de production. ....6

## **Chapitre II: Contrôle de la qualité d'un médicament**

II.1.Définition du contrôle de la qualité d'un médicament.....	7
II.2.Aspect réglementaire .....	7
II.2.1.Réglementation. ....	7
II.3. But du contrôle de la qualité .....	8
II.4. Contrôle de la qualité d'un médicament .....	8
II.4.1. Contrôle microbiologique. ....	8
II.4.2. Contrôle physico-chimique.....	9
II.5.Les référence de qualité pour l'industrie pharmaceutique.....	9
II.5.1.La pharmacopée européenne .....	9
II.5.1.1.Description.....	9
II.5.1.2.Le rôle de la Pharmacopée Européenne.....	9
II.5.2. Les bonnes pratiques de fabrication.....	10
II.5.3. Directives environnementales, hygiène et sécuritaires.....	10
II.5.3.1. Description et gestion des impacts propres aux activités considérées.....	10

## **Chapitre III: Matériel et méthodes**

III.1. Présentation de l'entreprise d'accueil .....	12
III.2.Présentation de PIMAG Ampoules buvables 10 .....	12
III.3. Contrôle physico-chimique .....	13
III.3.1. Pidolate de magnésium (principe actif) .....	13
III.3.1.1. Echantillonnage .....	13
III.3.1.2.Caractères du Pidolate de magnésium .....	13
III.3.1.3. Identification du Pidolate de magnésium.....	14

III.3.1.4. Essais du Pidolate de magnésium .....	15
III.3.1.5. Dosage du magnésium (Complexométrie).....	20
III.3.2. PIMAG ampoules buvables 10ml (Produit fini) .....	21
III.3.2.1. Echantillonnage .....	21
III .3.2.2. Caractère du PIMAG ampoule buvable 10 ml .....	21
III .3.2.2. Essais du PIMAG ampoule buvable 10 ml.....	21
III .3.2.3. Dosage du PIMAG ampoule buvable 10 ml.....	22
III.4. Contrôle microbiologique du PIMAG ampoule buvable 10 ml .....	25
III.4.1. Dénombrement des germes aérobies viables totaux (Bactéries aérobies + Levures et moisissures) .....	26
III.4.1.1. Dénombrement des germes aérobies viables totaux .....	27
III.4.1.2. Dénombrement des levures et moisissures .....	27
III.4.2. Recherche des microorganismes spécifiques .....	29
III.4.2.1. Recherche d' <i>Escherichia coli</i> .....	29

## Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Résultats du Contrôle physico-chimique .....	33
IV.1.1. Résultats du Pidolate de magnésium (principe actif) .....	31
IV.1.1.1. Résultats du caractère du Pidolate de magnésium .....	31
IV.1.1.2. Résultats d'identification du Pidolate de magnésium .....	31
IV.1.1.3. Résultats des essais du Pidolate de magnésium .....	32
IV.1.1.4. Résultats du dosage du magnésium (Complexométrie).....	37
IV.1.2. Résultats du PIMAG ampoules buvables 10ml (produit fini) .....	38
IV.1.2.1. Résultats du caractère du PIMAG ampoules buvables 10ml .....	38

IV.1.2.2. Résultats des essais du PIMAG ampoules buvables 10ml38 .....	38
IV.1.2.3. Résultats du dosage du PIMAG ampoules buvables 10ml .....	41
IV.2.Résultats du Contrôle microbiologique de PIMAG ampoules buvables 10ml .....	46
Conclusion .....	48

Références bibliographiques

Annexes



## Liste des abréviations

- **AMM** Autorisation de mise sur le marché
- **API** Analytical profile index
- **AU** Arbitrary Unit
- **BPF** Bonnes Pratiques de Fabrication
- **CCM** Chromatographie sur couche mince
- **DCI** Dénomination commune internationale
- ***E.Coli*** *Escherichia coli*
- **EDTA** Acide éthylènediaminetétraacétique
- **EHS** Environnement, Hygiène et Sécurité
- **HPLC** Chromatographie Liquide à Haute Performance
  
- **ISO** Organisation Internationale de Normalisation /International Organization for Standardization/ Organisation Internationale De Normalisation
- **GSK** GlaxoSmithKline
- **KL** Karl Fischer
- **LNCPP** Laboratoire Nationale de Contrôle des Produits Pharmaceutiques
- **MCA** Milieu gélosé de MacConKey
- **MCB** Milieu liquide de MacConKey
- **Mg** Magnésium
- **OMS** Organisation Mondiale de la Santé
- **PHB** Poly-  $\beta$ -hydroxybutyrate
- **Ph. Eur** Pharmacopée Européenne
- **RSD** Relative Standard Deviation
- **SCR** Standard de Contrôle et de Référence
- **SGG** Milieu Sabouraud Glucose Gélosé
- **STP** Solution Tampon peptonée au Chlorure de sodium
- **TR** Temps de rétention
- **TSA** Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja
- **TSL** Milieu liquide aux peptones de caséine et du soja
- **UFC/ ml** Unité Formant Colonies par millilitre de produit

## Listes des figures

<b>Figure 01:</b> PIMAG Ampoule buvable 10 ml (Pidolate de magnésium).....	12
<b>Figure 02 :</b> Aspect de la poudre Pidolate de Mg.....	14
<b>Figure 03 :</b> Appareil du polarimètre (ATAGO/POLAX-D) .....	16
<b>Figure 04:</b> Les solutions préparé et injectés dans l'appareille d'HPLC.....	18
<b>Figure 05:</b> L'appareil de Karl Fischer (Metrohm).....	20
<b>Figure 06 :</b> Dosage du principe actif par complexométrie .....	23
<b>Figure 07:</b> Filtration sur membrane.....	25
<b>Figure 08:</b> Schéma représentant la méthode de dénombrement des germes aérobies viables totaux (bactéries aérobies +levures et moisissures) par la technique de filtration sur membrane.....	28
<b>Figure 09:</b> Schéma représentant la méthode de recherche des microorganismes spécifiques ( <i>Escherichia coli</i> ).....	30
<b>Figure 10:</b> Résultat de réaction de magnésium.....	32
<b>Figure 11:</b> Résultat chromatogramme obtenu avec la solution examiner.....	33
<b>Figure 12 :</b> Résultat chromatogramme obtenu avec la solution témoin (d).....	36
<b>Figure 13:</b> Résultat de dosage de principe actif par complexométrie.....	41
<b>Figure 14:</b> Chromatogrammes du standard du 05 injection 1,2,3,4,5 des conservateurs (PHB méthyle et PHB propyl ) du PIMAG ampoule buvable 10ml détectés à 255 nm.....	44
<b>Figure15 :</b> Chromatogrammes du l'essai du 02 injections du PIMAG ampoule buvable 10ml détectés à 255 nm.....	44
<b>Figure 16:</b> Compteur des colonies.....	46

<b>Figure17</b> :Absence de <i>Ecoli</i> .....	46
<b>Figure18</b> :Absence des germes aérobies viables totaux .....	46
<b>Figure19</b> :Absence des levures et moisissures.....	46

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Les différents stades de la conception d'un médicament.....	05
<b>Tableau II:</b> Composition chimique du PIMAG Ampoules buvables 10ml .....	13
<b>Tableau III:</b> Conditions opératoires.....	17
<b>Tableau IV :</b> La quantité des ampoules nécessaire pour l'analyse.....	21
<b>Tableau V:</b> Condition chromatographiques pour HPLC.....	24
<b>Tableau VI :</b> Résultats des tests de caractère du Pidolate de magnésium.....	31
<b>Tableau VII:</b> Résultats de solution à examiner .....	33
<b>Tableau VIII:</b> Résultats de solution témoin (b) .....	34
<b>Tableau IX :</b> les résultats de solution témoin (c) .....	34
<b>Tableau X :</b> les résultats de solution témoin (d) .....	35
<b>Tableau XI:</b> Résultat du caractère du PIMAG Ampoules buvables 10ml .....	38
<b>Tableau XII:</b> Résultat du volume moyen du PIMAG Ampoules buvables 10ml .....	39
<b>Tableau XIII:</b> Résultat du volume de 20 ampoules du PIMAG Ampoules buvables 10ml...39	
<b>Tableau XIV:</b> Les normes de l'uniformité de volume du PIMAG Ampoules buvables 10ml.....	40
<b>Tableau XV:</b> Résultat du pH du PIMAG ampoules buvables 10ml.....	41
<b>Tableau XVI:</b> Résultat de la densité du PIMAG ampoules buvables 10ml.....	41
<b>Tableau XVII :</b> Air du pic (AU*Min) et TR (min) du standard des conservateurs (PHB méthyle et PHB propyl) du produit.....	42
<b>Tableau XVIII:</b> Air du pic (AU*Min) et TR (min) du l'essai du PIMAG Ampoules buvables 10ml.....	43
<b>Tableau XIX:</b> Résultats du contrôle microbiologique du PIMAG Ampoules buvables 10ml.....	46

# Introduction

---

L'industrie pharmaceutique se présente comme un secteur soumis à une forte contrainte réglementaire. Celle-ci serait la garantie de la sécurité des médicaments, ces produits « pas comme les autres » qui en retour sont situés sur un marché protégé. L'encadrement étatique de la production pharmaceutique est historiquement fort car il est lié à la fonction régaliennne de préservation des populations [01].

L'industrie pharmaceutique algérienne, est confortée à la nécessité de se mettre au diapason de l'évolution des exigences internationales en matière de recherche et de développement de leurs objectifs. La fabrication de médicament de dernière génération capable de prendre en charge les pathologies les plus fréquentes et ce à moindre cout, tout en respectant les critères d'efficacité et de qualité, de sécurité et de tolérance [02].

La qualité des médicaments est un des soucis majeurs des professionnels des services de santé et des patients, elle se définit par la maîtrise de l'ensemble de paramètres et propriétés qui permettent d'assurer la sécurité des patients et amener le médicament à un niveau d'exigences satisfaisantes. Afin d'atteindre cette qualité, il faut évaluer les risques microbiologiques (liés à la présence de pathogènes) et physico-chimiques (liés aux modifications des caractères physico-chimiques spécifiques) dans les médicaments. En effet, ceci constitue un grand risque pour les patients et un défi pour les responsables de la sécurité sanitaire [03].

Les industries pharmaceutiques doivent maitriser les propriétés physico-chimiques de leurs produits et les bio-contaminations dans le contexte général de la sécurité et de l'efficacité des médicaments. Le contrôle microbiologique et physico-chimique a évolué avec l'évolution de la biotechnologie. Il est présent tout au long de la chaîne de production et au niveau du produit fini pour répondre aux exigences réglementaires aux normes observées par l'industrie [04].

Tout ce qui rentre et tout ce qui sort d'une industrie pharmaceutique est prélevé pour analyse dans un travail de contrôle énorme et impératif. Vérifier la conformité des matières premières achetées par rapport aux normes convenues avec le fournisseur et la conformité des compositions vendues de façon à assurer aux clients la continuité d'un produit dans le temps.

Cette recherche a élaboré l'étude des paramètres physico-chimiques et microbiologiques de PIMAG ampoules buvables 10 ml pour déterminer sa conformité avec les normes en vigueur et donc sa qualité.

# Introduction

---

Pour ce faire, des généralités sur les médicaments, ainsi que le contrôle de la qualité dans l'industrie pharmaceutique ont été développées. L'étude expérimentale et la partie résultats sont scindées en deux grandes parties : la première est consacrée au contrôle physico-chimique de principe actif (Pidolate de magnésium) et de produit fini (PIMAG ampoules buvables 10 ml) et la deuxième partie est consacrée pour le contrôle microbiologique de produit fini. Les résultats ont fait l'objet d'une confirmation de la qualité du produit testé qui a le mérite de comparer nos résultats à ceux déjà développés par la pharmacopée européenne 8ème édition.

Le médicament est un produit de consommation dont l'utilisation a pour objectif de traiter ou de prévenir une maladie. En France le médicament est défini officiellement par le code de la santé publique par « 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 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 leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique »[05].

### **I.1.La formulation d'un médicament**

La formulation d'un médicament correspond à l'ensemble des substances qui entrent dans sa composition. Dans la formulation, on distingue deux sortes de composés, le principe actif qui correspond à l'ensemble des espèces chimiques qui sont responsables de l'action de ce médicament sur l'organisme, et les excipients qui sont généralement inactifs sur la maladie et qui permettent de faciliter l'emploi du médicament et de fabriquer la forme galénique souhaitée. Ils n'ont pas de propriétés pharmacologiques et ne doivent pas interagir avec le principe actif [06]. Sur une boîte de médicaments, on trouve toujours des informations essentielles pour identifier le principe actif du médicament, ses excipients mais aussi les conditions d'utilisation du médicament.

### **I.2.Dénomination du médicament**

#### **I.2.1. Le nom chimique d'un médicament**

Le nom chimique (ou scientifique) correspond à celui de la substance qui compose le médicament. Il est surtout utilisé par les chercheurs [07].

#### **I.2.2.Dénomination commune internationale**

Celle-ci est attribuée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), et non choisie par le fabricant. Elle n'est pas le fruit du hasard. Elle est composée à partir de segments-clés qui renseignent notamment sur l'origine et le mode d'action pharmacologique du produit. La DCI n'appartient à personne. Elle doit être prononçable dans toutes les langues, et c'est elle qui permet d'identifier une substance dans tous les pays [08].

### **I.2.3.Le nom de marque d'un médicament**

Le nom de marque (qualifié aussi de commercial ou de pharmaceutique) en revanche, est choisi par le producteur du médicament. Cette appellation est généralement courte et facile à mémoriser. Mais à la différence du nom commercial, elle pourra différer d'un pays à l'autre [07].

## **I.3.Les différentes formes médicamenteuses**

La forme pharmaceutique, d'un médicament, correspond à la manière dont il se présente, La mise en forme pharmaceutique de l'ensemble principe actif et excipient est le domaine de la pharmacie galénique. [9] On trouve principalement :

### **I.3.1.Formes pharmaceutiques destinées à la voie orale**

Les formes pharmaceutiques destinées à la voie orale sont multiples et ont des caractéristiques variées. La vitesse de libération du principe actif à partir de sa forme galénique est accélérée, ralentie (ou différée) ou prolongée grâce à des procédés technologiques ou une formulation particulière. Ces formes galéniques particulières sont souvent caractérisées par la présence d'une abréviation après le nom de la spécialité [09].

### **I.3.2.Formes pharmaceutiques destinées à la voie parentérale**

Le médicament est administré au moyen d'une injection. Ce mode d'administration nécessite une aiguille hypodermique ou un cathéter mis en place par effraction plus ou moins profonde du revêtement externe du corps, c'est-à-dire la peau le plus souvent. L'action des médicaments pris par voie parentérale est générale systémique [10].

### **I.3.3.Formes pharmaceutiques destinées à la voir rectale**

Elles permettent une action locale ou systémique du principe actif. On trouve principalement les suppositoires qui sont des préparations solides contenant une unité de prise du principe actif [09].

### **I.3.4.Formes pharmaceutiques destinées à la voie vaginale**

La voie vaginale ou voie gynécologique est une voie d'administration de médicament au niveau du vagin. L'action de ces médicaments est généralement locale, Différentes formes galéniques sont possibles, les crèmes, les capsules, gels... [10]



### **I.3.5. Formes pharmaceutiques destinées à la voie oculaire**

Ce sont des préparations destinées à être appliquées sur le globe oculaire et les conjonctives ou à être introduite dans le cul de sac conjonctif de l'œil [10].

### **I.3.6. Formes pharmaceutiques destinées à la voie respiratoire**

Ce sont des préparations solides ou liquides destinées à être administrées sous forme de vapeur, d'aérosol ou de poudre dans la partie inférieure des voies respiratoires en vue d'une action locale ou systémique [11].

### **I.3.7. Formes pharmaceutiques destinées à la voie cutanée**

Elles sont appliquées sur la peau ou certaines muqueuses afin d'exercer une action locale ou de réaliser la pénétration percutanée des principes actifs. Ce sont principalement les pommades, les crèmes et les gels [11].

## **I.4. Principales étapes de la fabrication d'un médicament**

La genèse d'un médicament se déroule en deux phases : la conception et la production.

### **I.4.1. La phase de conception**

Une équipe de recherche est chargée de réaliser une formule de médicament. La phase de conception du médicament est résumée dans le tableau I [12].

### **I.4.2. La phase de production**

Durant cette phase, l'objectif est de reproduire en quantité industrielle des médicaments conformes à la qualité du produit qui a servi aux essais cliniques. Lors de leur fabrication, les médicaments suivent un cycle industriel qui les fait passer des matières premières au produit fini. Ce cycle n'est pas exactement le même en fonction de la forme galénique qu'aura le médicament au final [13]. Les principales étapes d'un cycle de production sont :

- Réception des ingrédients de base : principe actif, excipients, articles de conditionnement, matière première.
- Pesée et mélange de la substance active avec les excipients.
- Séchage : cette étape a lieu pour les médicaments autres que liquides.
- Compression : cette étape a lieu seulement pour les comprimés.

- Enrobage et dragéification : cette étape a lieu pour les gélules.
- Conditionnement primaire.
- Conditionnement secondaire.
- Mise en palette.
- Stockage.

**Tableau I :** Les différents stades de la conception d'un médicament [12].

Recherches documentaires	Étude préclinique
Screening pharmacologique	
Molécule active	
Pharmacologie expérimentale	Étude chez les animaux
Pharmacocinétique et métabolisme du médicament	
Mise en forme galénique	
Essais sur l'homme	Étude chez l'homme
phases I - II - III	
Essais expérimentaux	
Recherche de processus	
Dossier d'AMM	AMM
Autorisation de mise sur le marché	Commercialisation
Production - Industrialisation	Essai IV
Commercialisation	pharmacovigilance

La production doit être effectuée dans le respect des bonnes pratiques de fabrication et être conforme aux instructions et procédures préétablies. Les médicaments sont désormais prêt à la vente mais ils le seront seulement si les tests effectués tout au long de leur fabrication sont concluants, c'est à dire : Le contrôle qualité puis après le stockage, la libération des lots.

Lors de l'évaluation des produits finis avec leur libération pour la vente ou la distribution, le département de contrôle de la qualité doit notamment tenir compte des conditions de production, des résultats des contrôles en cours de fabrication, de l'examen des documents de fabrication et de la conformité des produits aux spécifications.

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 et n'exposant les utilisateurs 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 l'entreprise. Elle requiert la participation et l'engagement du personnel dans les différents départements et à tous les niveaux de l'entreprise, de ses fournisseurs et des distributeurs [14]. Pour atteindre plus sûrement cet objectif, l'entreprise doit posséder un système d'assurance de la qualité, bien conçu, correctement mis en œuvre et effectivement contrôlé, système qui inclut le concept des domaines de fabrication et ses règles de fonctionnement constitue le moteur de la qualité dans l'industrie pharmaceutique [14].

### **II.1.Définition du contrôle de la qualité**

Selon l'ISO8402, la qualité est « L'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins explicites ou implicites d'un client » [15].

A partir de la définition précédente, le contrôle de la qualité est une procédure ou une série de procédures visant à s'assurer qu'un produit manufacturé ou un service satisfait un ensemble défini de critères de qualité ou répond aux exigences du client [15].

### **II.2.Aspect réglementaire**

En Algérie le ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière s'est assigné comme objectifs:

- Le rationalisation de l'offre par le biais de la nomenclature nationale tenant compte de la notion de médicaments essentiels.
- La disponibilité de médicament de qualité, de sécurité, d'efficacité et d'accessibilité acceptables.
- L'encouragement d'une industrie pharmaceutique nationale performante [16].

#### **II.2.1.Réglementation**

Le ministère chargé de la santé par le biais de la direction de la pharmacie et du médicament est l'administration chargée du contrôle dans un cadre réglementaire, régissant l'utilisation, la distribution et la production des médicaments. Elle est chargée en coordination avec Laboratoire Nationale de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP) de : l'évaluation et contrôle des médicaments, l'homologation et de l'enregistrement (médicaments), la révision et le renouvellement de la décision d'enregistrement, suivi du

contrôle de la qualité (contrôle de chaque lot de produit pharmaceutique avant sa commercialisation) et inspection [16].

### **II.3. But du contrôle de la qualité**

L'objectif principal du contrôle de qualité est d'étudier les normes pour les propriétés du produit, d'évaluer les résultats et de rejeter les produits qui ne répondent pas aux normes. [17].

Le contrôle de la qualité a pour but de certifier que chaque produit est satisfait aux exigences de qualité. Il doit être effectué sur les équipements et les opérations, garantir un contrôle analytique des matières premières, ainsi qu'un échantillonnage caractéristique de chaque lot. De plus, il doit comporter des comptes rendus sur les essais permettant la libération de chaque lot. Ceux-ci doivent être conservés au moins un an après la date limite d'utilisation des matières premières et au moins un an après la date de péremption des produits finis [18].

### **II.4. Contrôle de la qualité d'un médicament**

Le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) définit le contrôle de la qualité comme étant la vérification ou le contrôle de la conformité aux spécifications. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) le définit de façon plus détaillée, comme étant toute mesure prise incluant la mise au point de spécifications, l'échantillonnage, l'analyse et le traitement des données analytiques, afin de confirmer que les matières premières, les produits intermédiaires, les articles de conditionnement et le produit pharmaceutique final pour assurer la conformité de ces substances aux spécifications établies [19].

#### **II.4.1. Contrôle microbiologique :**

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué. De plus, ils doivent permettre de minimiser les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication et donc d'avoir le moins possible de produits non conformes et de garantir un bon rendement [04] .

Les essais microbiologiques ont été conçus pour le dénombrement des bactéries, des moisissures et des levures capables de croître en aérobiose. Ces essais sont en premier lieu destinés à déterminer, si un produit faisant l'objet d'une monographie de la pharmacopée satisfait aux exigences microbiologiques spécifiées dans cette monographie. Le choix de la méthode est déterminé par des facteurs, tels que la nature du produit et le nombre de microorganismes présumé. Quelle que soit la méthode choisie, elle doit être convenablement validée [04].

**II.4.2. Contrôle physico-chimique :**

Le contrôle physico-chimique sert à vérifier la structure de la molécule et d'établir les propriétés physiques et chimiques. Il permet ainsi de vérifier et de s'assurer du bon usage de la substance annoncée (analyses qualitatives, réactions d'identification les plus sélectives possibles) [20].

La conformité du médicament aux normes et sa validité sont examinées par plusieurs méthodes analytiques qualitatives et quantitatives, telles que les dosages volumétriques, les dosages par spectrophotométrie UV/visible et l'analyse par différentes méthodes chromatographiques en l'occurrence, la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ... etc. [20].

**II.5. Les références de qualité pour l'industrie pharmaceutique****II.5.1. La pharmacopée européenne**

C'est un recueil de normes communes, à l'échelle européenne, destinées au contrôle de la qualité des médicaments à usage humain ou vétérinaire et des substances qui entrent dans leur composition [21].

On appelle également pharmacopée européenne l'institution qui, dans le cadre de la direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé du conseil de l'Europe, assure l'élaboration et la publication des normes de la pharmacopée européenne. Cette institution a pour objectif et mission la protection de la santé publique [21].

**II.5.1.1. Description**

La pharmacopée européenne est élaborée sous l'égide du conseil de l'Europe en application de la convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne. Cette convention a été signée par 37 pays membres de l'Union Européenne. Le siège de la pharmacopée européenne se trouve à Strasbourg [21].

**II.5.1.2. Le rôle de la Pharmacopée Européenne**

Elle participe à la protection de la santé publique en élaborant des monographies générales et spécifiques, ainsi que d'autres textes réglementaires. Ces derniers permettent de réglementer la fabrication des produits de santé et d'assurer leur contrôle de qualité. Ils sont applicables sur le territoire des pays membres. Ils répondent aux besoins des autorités réglementaires, des fabricants de matières premières et de médicaments, et des services chargés des contrôles de qualité des médicaments et de leurs constituants. Cela concerne les substances chimiques, biologiques et les biosimilaires [21].

Il est important de noter que le référentiel du contrôle de la qualité des médicaments du laboratoire GlaxoSmithKline (GSK) est la pharmacopée européenne 8ème édition.

### **II.5.2. Les bonnes pratiques de fabrication**

Les bonnes pratiques de fabrication (BPF) font partie de l'assurance qualité, ces pratiques garantissent que les médicaments sont continuellement produits selon les standards de qualité adéquats, l'usage auquel ils sont destinés, et tels que l'exige l'autorisation officielle de leur mise sur le marché, ils visent à minimiser les risques impliqués dans toute la production pharmaceutique, lesquels ne peuvent être évités qu'en testant le produit fini [22]. Il s'agit d'un guide qui doit être obligatoirement suivi, qui est organisé en différents chapitres traitant de la gestion de la qualité, du personnel, des locaux et équipements, de la documentation, de la production, du contrôle de qualité, de la sous-traitance et l'analyse de la fabrication, des réclamations et retrait des produits, de l'auto-inspection. Ces bonnes pratiques de fabrication garantissent que les médicaments soient fabriqués selon des normes de qualité et que leur fabrication est documentée et contrôlée [23].

Les BPF sont nécessaires même s'il y a un laboratoire de contrôle, ils ont pour objectifs de diminuer les risques inhérents à toute production pharmaceutique, qui ne peuvent être entièrement prévenus par l'analyse du produit fini. Sans les BPF, on ne peut être sûr que chaque médicament fabriqué à la même qualité que les autres [24].

### **II.5.3. Directives environnementales, hygiène et sécuritaires**

Les Directives environnementales, hygiène et sécuritaires (EHS) sont des documents de références techniques qui présentent des exemples de bonnes pratiques internationales<sup>1</sup>, de portée générale ou concernant une branche d'activité particulière [25].

Les Directives EHS pour la fabrication de produits pharmaceutiques et biotechnologiques présentent des informations pertinentes pour les installations fabriquant ces produits, elles couvrent la production des ingrédients pharmaceutiques actifs et le traitement secondaire, y compris les produits intermédiaires, la formulation, le mélange, et le conditionnement, et les activités connexes de recherche, dont la recherche et la production biotechnologiques [25].

#### **II.5.3.1. Description et gestion des impacts propres aux activités considérées**

Les questions EHS associées à la fabrication des produits pharmaceutiques et biotechnologiques sont :

➤ **Environnement**

Les questions environnementales ci-après doivent être examinées dans le cadre d'un programme global d'évaluation et de gestion portant sur les risques spécifiques au projet et ses impacts potentiels. Les problèmes environnementaux qui peuvent être associés aux projets de fabrication de produits pharmaceutiques et biotechnologiques rentrent dans les catégories suivantes :

- Émissions atmosphériques
- Eaux usées
- Déchets solides et dangereux
- Matières dangereuses
- Risques pour la biodiversité
- Bioéthique [25].

➤ **Hygiène et sécurité au travail**

Les risques qui peuvent se poser dans le domaine de l'hygiène et de la sécurité au travail propres à l'installation doivent être identifiés dans le cadre d'une analyse de la sécurité au travail ou d'une évaluation globale des dangers et des risques effectuées par des méthodes éprouvées [25].

De manière générale, la planification des mesures de gestion de la santé et de la sécurité doit suivre une démarche systématique et structurée visant à prévenir et à maîtriser les risques physiques, chimiques, biologique et radiologiques pour la santé et la sécurité [25].

Les problèmes d'hygiène et de sécurité au travail susceptibles de se poser durant la construction et le démantèlement des installations de fabrication de produits pharmaceutiques et biotechnologiques sont semblables à ceux rencontrés dans d'autres installations industrielles, et les mesures à prendre pour gérer ces problèmes sont décrites dans les directives EHS générales. Les risques les plus significatifs dans le domaine de l'hygiène et de la sécurité au travail sont associés à l'exploitation des installations pharmaceutiques et biotechnologiques et rentrent principalement dans les catégories suivantes :

- Risques liés à la chaleur
- Risques chimiques y compris les incendies et les explosions
- Risques pathogènes et biologiques
- Risques radiologiques
- Bruit [25] .

### III.1. Présentation de l'entreprise d'accueil

Notre stage a été effectué dans les différentes unités du laboratoire de GlaxoSmithKline (GSK), Boudouaou, wilaya de Boumerdès à partir du 21/03/2018 jusqu'au 10/05/2018 dans le but de déterminé le contrôle de qualité d'un produit pharmaceutique (PIMAG ampoules buvables 10 ml) à partir de matière première jusqu'à le produit fini.

Dans le cadre de notre travail nous avons choisi le PIMAG ampoule buvable 10 ml pour faire le contrôle de qualité, en raison de production de ce médicament par l'unité GSK au cours de la période de stage.

### III.2.Présentation de PIMAG ampoules buvables 10 ml

Ampoules buvables (Pidolate de magnésium) fabriqué par le laboratoire pharmaceutique GSK est le médicament choisit pour notre étude pour faire l'ensemble des analyses de contrôle qualité à partir de principe actif jusqu'à produit fini. C'est un médicament prescrit généralement pour le traitement des carences en magnésium. Ce médicament est réservé à l'adulte et à l'enfant de plus de 15 ans, le traitement ne doit pas être prolongé au-delà d'un mois.

L'utilisation de ce médicament est déconseillée chez les patients présentant une intolérance au fructose, un syndrome de malabsorption du glucose et du galactose (Maladies héréditaires rares).

Ce médicament ne sera utilisé pendant la grossesse que sur les conseils de médecin. Le médicament passe dans le lait maternel, en conséquence l'allaitement est à éviter pendant le traitement.



**Figure 01 : PIMAG ampoule buvable 10 ml (Pidolate de magnésium)**



**Tableau II:** Composition chimique du PIMAG ampoule buvable 10 ml

Dénomination commun internationale	Pidolate de magnésium.
Nom Commercial	PIMAG (Le laboratoire pharmaceutique GSK)
Forme	Solution buvable.
Présentations	Ampoules buvables de 10 ml. Boite de 20.
Principe actif	Pidolate de magnésium.
Excipients	Saccharose. Arome orange douce. Parahydroxybenzoate de methyle (conservateur). Parahydroxybenzoate de propyle (conservateur).
Mode d'administration	Voie orale.
Classe pharmaco thérapeutique	Supplément minéral

### III.3. Contrôle physico-chimique

#### III.3.1. Pidolate de magnésium (principe actif)

Tout le matériel et les réactifs utilisés dans cette partie sont présentés dans l'annexe 02.

##### III.3.1.1. Echantillonnage

Les prélèvements du principe actif Pidolate de magnésium (sous forme d'une poudre) destiné au contrôle ont été effectués par le technicien du laboratoire. Le principe actif porte un numéro de lot 171908. Tous les prélèvements ont été effectués dans des conditions stériles et à température ambiante. L'étude a eu lieu du 28 mars au 05 avril 2018.

La méthode de contrôle du principe actif comporte quatre étapes qui sont le caractère de principe actif, la confirmation de l'identité de la substance, dosage, et essais qui visent essentiellement à limiter les impuretés dans le principe actif.

##### III.3.1.2. Caractères du Pidolate de magnésium

###### ➤ Aspect et couleur

L'observation de l'aspect et la couleur de Pidolate de magnésium ont été effectués directement par l'œil nu [26].



**Figure 02 :** Aspect de la poudre Pidolate de magnésium

➤ **Solubilité**

Les observations de solubilité ont été effectuées par mise des prises d'essais de Pidolate de magnésium dans trois tubes à essais contenant successivement du méthanol, eau et chlorure de méthylène, à l'aide d'un agitateur à tube (vortex), on arrive aux observations de solubilité[26].

**III.3.1.3. Identification du Pidolate de magnésium**

➤ **Chromatographie sur couche mince**

Cette méthode d'identification requiert l'emploi de substance de référence elle est utilisée principalement dans un but analytique qualitatif. La chromatographie sur couche mince (CCM) est basée essentiellement sur des phénomènes d'adsorption et sur le principe de la capillarité. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve chromatographique, l'éluant monte à travers la phase stationnaire. Mais, en fonction de sa densité, de sa solubilité dans la phase mobile et des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse dans l'absorbant.

La chromatographie sur couche mince (CCM) est constituée principalement par trois éléments bien définis : la phase mobile (un solvant ou un mélange de solvants), la phase stationnaire (une couche de gel de silice qui est fixée sur une plaque de verre) et l'échantillon qui est mis en solution (2 à 5 %) dans un solvant volatil. La solution est déposée sur la plaque, à environ 1 cm de la partie inférieure.

La préparation des solutions utilisées dans cette partie est présentée dans l'annexe 01.

La cuve chromatographique a été remplie par un mélange de solvant (22.5ml de méthanol, 30 ml d'acide acétique glacial et 97.5ml chlorure de méthylène), puis recouvert afin que l'atmosphère reste saturée en vapeurs d'éluant (phase mobile) [26].

La plaque chromatographique a été séchée à l'aide d'un sèche-cheveux, puis déposé verticalement dans la cuve et sortie de la cuve lorsque le solvant a atteint les 2/3 environ de la hauteur. La plaque a été pulvérisée par la solution concentrée d'hypochlorite de sodium, une deuxième pulvérisation après 10min par l'acide acétique glacial. La plaque a été séchée pendant 2min puis une troisième pulvérisation a été réalisée par la solution amidonnée d'iodure de potassium jusqu'à apparition des taches [26].

#### ➤ Réaction du magnésium

Un test d'identification d'ion, permet de vérifier la présence d'un ion donné en solution aqueuse, Il met en jeu une réaction de précipitation impliquant l'ion testé et un autre ion avec lequel il forme un composé de faible solubilité.

La préparation des solutions utilisées dans ce test est présentée dans l'annexe 01.

Pour identifier le magnésium ,à l'aide de micropipette un volume de 0.15ml de solution S déjà préparé a été prélevé et mis dans un tube à essai, puis un volume de 1.8ml d'eau distillé avec 1 ml d'ammoniac dilué mesuré à l'aide de pipette ont été ajoutés , une formation d'un précipite blanc qui se dissout par addition de 1ml de solution de chlorure d'ammonium a été remarqué et pour terminer ce test un volume de 1ml de solution phosphate disodique a été ajouté[26].

#### III.3.1.4. Essais du Pidolate de magnésium

##### ➤ pH de la solution S

Le pH de la solution S (annexe 01) a été mesuré dans un bécher de 10 ml à l'aide d'un pH mètre de modèle (inoLab7310) [26].

##### ➤ Pouvoir rotatoire spécifique

Le pouvoir rotatoire est une propriété typique de composés chimiques possédant une structure asymétrique. La mesure du pouvoir rotatoire est à la base d'une méthode d'analyse physico-chimique, la polarimétrie [27].

Le polarimètre est un appareil qui permet la mesure de l'angle de rotation du plan de polarisation d'un faisceau lumineux traversant une substance optiquement active (figure 3). Il est ainsi possible de déterminer le pouvoir rotatoire spécifique d'une substance.



**Figure 03 :** Appareil du polarimètre (ATAGO/POLAX-D)

Le pouvoir rotatoire spécifique est déterminé avec la solution S (annexe 01), et pour cela nous avons utilisé un polarimètre de modèle (ATAGO/POLAX-D) pour déterminer l'angle de rotation ( $\alpha$ ) de l'échantillon. Pour trouver le pouvoir rotatoire spécifique, en appliquant la relation suivante :

$$PR = (\alpha * \text{volume}) / (\text{masse} * 2)$$

$$\text{La masse corrigée} = \text{masse} - (\text{masse} * \text{teneur en eau})$$

➤ **Substances apparentées : Chromatographie liquide à haute performance**

La chromatographie liquide à haute performance est basée sur le principe suivant, Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution d'abord, puis elle sera introduite dans la phase mobile liquide (éluant). Grâce à la répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire, chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire, et une force de mobilité due à la phase mobile. Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique [28].

La phase mobile, poussée par une pompe sous forte pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont représentés par des pics. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [29].

Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des molécules des composés d'un mélange entre deux phases non-miscibles : l'une mobile et l'autre stationnaire [29].

L'appareillage se compose d'un réservoir contenant la phase mobile, d'un système de pompage, d'un injecteur, d'une colonne chromatographique, d'un détecteur et d'un système d'acquisition des données (avec un logiciel pour traiter les signaux).

Afin de préparer la phase mobile, 1.56g de phosphate monosodique dihydraté a été dissous par agitation dans 1000ml d'eau, puis nous avons ajusté le pH à 2.5 avec une solution d'acide phosphorique à 10 pour cent v/v. la phase mobile a été filtré à travers un filtre de membrane de 0,45  $\mu\text{m}$  sous vide [26].

La préparation de solutions utilisées dans cette partie (solution examinée et solutions témoin) est présentée dans l'annexe 01.

Des vials ont été remplis avec les solutions préparés (solution témoin b, c, d et solution à examiner), puis placée dans le carrousel d'HPLC pour la lecture des résultats. les conditions opératoires de méthode sont illustrés dans le tableau 03.

**Tableau III:** Conditions opératoires pour HPLC.

<b>Colonne</b>	dimensions : l=0.25m, $\phi$ =4.6mm
<b>Phase stationnaire</b>	phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 $\mu\text{m}$ )
<b>Débit</b>	1.5ml/min
<b>Détection</b>	spectrophotomètre à 210nm (modèle Waters 2487)
<b>Injection</b>	10 $\mu\text{l}$ de solution à examiner et des solutions témoins
<b>Enregistrement</b>	4 fois le temps de rétention de l'acide pidolique



**Figure 04:** Les solutions préparées et injectées dans l'appareil d'HPLC (waters 2695).

Le calcul des paramètres est réalisé par le logiciel Empower 3.

➤ **Impureté A (Acide glutamique) : Chromatographie sur couche mince**

Le principe de la chromatographie sur couche mince a été détaillé dans la partie identification.

Afin de préparer la solution à examiner, 0,25g de Pidolate de magnésium a été dissous dans 4 ml de l'eau purifiée puis le volume a été complété à 50 ml avec de méthanol [26].

La préparation de solutions témoin (a) est présentée dans l'annexe 01.

Pour préparer la phase mobile nous avons rempli la cuve chromatographique par un mélange de solvant (20ml d'acide acétique glacial, 20ml d'eau et 60ml de butanol), puis la cuve a été recouverte [26].

La plaque chromatographique a été séchée à l'air, puis la plaque a été déposée verticalement dans la cuve. La plaque a été pulvérisée (lorsque le solvant a atteint les 2/3 environ de la hauteur de la plaque) par une solution de ninhydrine jusqu'à apparition des taches [26].

➤ **Test de Chlorures (impureté)**

La préparation des solutions utilisées dans ce test est présentée dans l'annexe 01.

1ml de solution S (voir identification) a été prélevé puis le volume a été complété à 15 ml avec l'eau distillée. Avec la pipette un volume de 1 ml d'acide nitrique dilué a été ajouté, ce mélange a été versé dans un tube à essai contenant 1ml de solution de nitrate d'argent. Le témoin a été préparé dans les mêmes conditions par l'utilisation d'un mélange de 10 ml de solution à 5ppm de chlorure(Cl) et 5 ml d'eau distillée. Les tubes à essai ont été examinés latéralement sur fond noir [26].

➤ **Test de Nitrates (impureté)**

Afin de tester la présence de nitrate dans le principe actif, la surface de chromatogramme obtenu avec la solution à examiner dans l'essai des substances apparentées a été examinée [26].

➤ **Test de Sulfates (impureté)**

La préparation des solutions utilisées dans ce test est présentée dans l'annexe 01.

Afin de tester la présence de sulfates dans le principe actif, 1.5ml de solution S (voir identification) a été prélevée puis le volume a été complété à 15 ml avec l'eau distillée. A 4.5 ml de solution à 10ppm de sulfate ( $\text{SO}_4$ ), un volume de 3ml d'une solution de chlorure de baryum a été ajouté, le mélange a été agité et laissé reposer pendant 1 min. A 2.5ml de cette suspension un volume de 15 ml de solution prescrite et 0.5ml d'acide acétique a été ajouté [26].

Le témoin a été préparé dans les mêmes conditions mais nous avons utilisé 15 ml de solution à 10ppm de sulfate au lieu de la solution prescrite. Les solutions ont été examinées visuellement après 5 min de leur préparation [26].

➤ **Test de Fer (impureté)**

La préparation des solutions utilisées dans ce test est présentée dans l'annexe 01.

Afin de tester la présence de fer dans le principe actif 0.5ml de solution S (voir identification) a été prélevée puis le volume a été complété à 10 ml avec l'eau distillée, un volume de 2 ml d'une solution d'acide citrique monohydraté (200g/L) et 0.1ml d'acide thioglycolique a été ajouté, le mélange a été alcalinisé avec de l'ammoniaque puis le volume a été complété à 20ml avec de l'eau distillée. Le témoin a été préparé dans les mêmes conditions, un volume de 10ml de solution à 1ppm de fer (Fe) a été utilisé. Les solutions ont été examinées visuellement après 5 min de leur préparation [26].

➤ **Teneur en eau**

La méthode de Karl Fischer se base sur l'oxydation du dioxyde de soufre par l'iode en présence d'eau  $\text{SO}_2 + \text{I}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{SO}_4 + 2 \text{HI}$ . Cette équation est réversible, l'eau n'est pas consommée entièrement et son dosage ne peut pas être quantitatif, pour remédier à cela, il faut ajouter une base (l'imidazole :  $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$ ), celle-ci va capter toute l'acidité formée lors de la réaction (HI et  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) et permettre de déplacer la réaction vers la droite. La réaction se fait

en présence de méthanol. [30]



La teneur en eau a été déterminé par Karl Fisher, pour cela une masse de 0.2g de Pidolate de magnésium a été mesuré et introduit dans l'appareille Karl Fisher de modèle (Metrohm).



**Figure 05:** L'appareil de Karl Fischer (Metrohm)

#### III.3.1.5.Dosage du magnésium (Complexométrie)

Dosage du magnésium par l'EDTA, le principe du dosage résulte de la compétition entre deux ligands sur le cation métallique : compétition entre l'indicateur coloré et l'EDTA.

La préparation des solutions utilisées dans ce test est présentée dans l'annexe 01.

Une masse de 0.3 de Pidolate de magnésium a été dissous dans l'eau distillée puis le volume a été complété à 50 ml avec le même solvant. Dans une fiole conique de 500ml la solution prescrit a été introduit puis le volume a été complété à 300ml avec de l'eau distillé, a cette solution un volume de 10ml de solution tampon chlorure d'ammonium pH 10.0et environ 50mg de mélange composé au mordant noir ont été ajoutés (apparition d'un couleur violet). Le mélange a été chauffé à environ 40°C, puis a cette température le titrage a été effectué par l'édétate de sodium 0.1M jusqu'à virage du violet au bleu franc. Un témoin a été préparé dans les mêmes conditions sans l'ajoute de Pidolate de magnésium (apparition d'un couleur bleu)[26]. Pour trouver la quantité de magnésium, en appliquant la relation suivante :

$$T \% = (V \text{ EDTA} * 2.431 / \text{PE essai}) * 100$$

1ml d'édétate de sodium (EDTA) 0.1 correspond à 2.431 mg de magnésium

$$\text{PE corrigée} = \text{PE} - (\text{PE} * \text{teneur en eau})$$



### III.3.2. PIMAG ampoules buvables 10ml (Produit fini)

Matériel et réactifs utilisés dans cette partie sont présentés dans l'annexe 03.

#### III.3.2.1. Echantillonnage

Les prélèvements destinés au contrôle physico-chimique ont été effectués sur un produit fini (sous forme des ampoules buvables) qui porte un numéro de lot 815002. L'étude a eu lieu du 18 avril au 22 avril 2018.

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

Le contrôle physicochimique de produit fini de PIMAG ampoules buvables comprend les étapes suivantes : caractère, essais et dosage.

**Tableau IV:** La quantité des ampoules nécessaire pour l'analyse

Contrôles	Quantités		
	Début	Milieu	Fin
<b>Volume, pH et densité</b>	10	10	10
<b>Uniformité de volume</b>	07	06	07
<b>Dosage</b>	05	05	05
<b>Microbiologie</b>	03	03	03

Quantité total a été prélevé : 74 ampoules (25 début- 24 milieu- 25 fin).

#### III.3.2.2. Caractère du PIMAG ampoules buvables

Dix ampoules de PIMAG ampoules buvables 10 ml de chaque niveau de production (début, milieu, fin) ont été utilisées comme échantillon pour déterminer l'aspect, couleur et l'odeur du produit fini.

#### III.3.2.3. Essais du PIMAG ampoules buvables

Des différents essais ont été effectués dans le but de tester les différents paramètres du produit fini en l'occurrence : le volume de contenu des ampoules, uniformité du volume, le pH de la solution et la densité. Les différents tests faits par la méthode suivant : le contenu

de 10 ampoules de chaque niveau de production (début, milieu, fin) a été pris et introduit dans une éprouvette graduée de 200 ml puis ont été mis chacun dans un bécher.

➤ **Volume de contenu des ampoules**

Le volume a été mesuré au moyen d'une éprouvette graduée de 200 ml de chaque niveau de production (début, milieu, fin) puis ont été déduits le volume moyen d'une ampoule [26].

➤ **Uniformité du volume**

Le volume de 07 ampoules pour le début et la fin et 6 ampoules pour le milieu ont été transférés dans une éprouvette graduée et ont été lus le volume séparément de chaque ampoule, puis ont été déterminés le volume moyen [26].

➤ **pH de la solution**

Le pH de la solution pour chaque niveau de production a été mesuré à l'aide d'un pH mètre (inoLab, 7310).

➤ **Densité**

La densité de la solution a été mesuré à l'aide de balance (Mettler Toledo, XPE 204), ont été introduits dans des fioles de 10 ml pour chaque niveau de production (début, milieu, fin)[26].

#### **III.3.2.4. Dosage du PIMAG ampoules buvables**

➤ **Dosage du principe actif : magnésium par complexométrie**

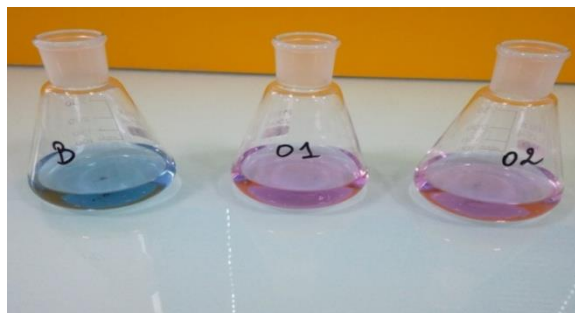
Le Principe de dosage a été détaillé dans la partie principe actif.

Le test du dosage permet de s'assurer que la quantité du principe actif déterminée dans le produit fini se trouve dans les limites de concentrations exigées par la Pharmacopée Européenne [115.90 -128.10mg/10ml] et ce, pour obtenir l'effet thérapeutique escompté. Pour ce faire, ont été faits le titrage avec l'EDTA de sodium 0.1 N. Le point équivalent sera déterminé en présence du mordant noir comme indicateur coloré [26].

Les préparations des solutions utilisées dans cette partie sont présentées dans l'annexe 01.

Dans un Erlenmeyer de 250 ml, ont été introduits 1ml du PIMAG et ajouté 75ml de l'eau purifiée et 5 ml de solution tampon de chlorure d'ammonium pH=10 .Puis ont été

ajoutés quelques milligrammes du mordant noir, la solution devient rouge puis le chauffage a été fait à 40° C en agitant de temps en temps, ont été titrés à cette température avec de l'EDTA de sodium à 0.1M, jusqu'au virage du rouge au bleu puis ont été ajoutés 1ml de l'EDTA correspondant à 2.431 mg de magnésium et le blanc composé de 75ml de l'eau purifiée et 5 ml de solution tampon de chlorure d'ammonium pH=10 avec quelques milligrammes du mordant noir, la solution devient rouge puis le chauffage a été fait à 40° C et ont été ajoutés l'EDTA de sodium à 0.1M, jusqu'à la solution devient bleu (figure 06).



**Figure 06 :** Dosage du principe actif par complexométrie (B : blanc ; 01 et 02 : solution à doser)

Après le titrage ont été déterminés la quantité de magnésium en mg contenue dans une ampoule de 10ml, en appliquant la relation suivante :

$$\text{Titre} = V1 - V2 / Pe * 2.431 * 10$$

V1 : Volume de l'EDTA dans la solution à doser

V2: Volume de l'EDTA du blanc

Pe : Prise d'essai

#### ➤ Dosage des conservateurs : PHB de méthyle et de propyl par HPLC

Le principe de l'HPLC a été détaillé dans la partie principe actif.

La détermination du dosage des conservateurs PHB de méthyle et de propyl a été réalisée par la chromatographie liquide à haute performance HPLC (Waters Alliance, 2695), couplée avec un détecteur (Waters ,2996). Des vials ont été remplis avec les solutions préparés puis placée dans le carrousel d'HPLC. Les paramètres de HPLC sont illustrés dans le tableau 05[26].

**Tableau V:** Conditions chromatographiques

<b>Phase mobile</b>	Méthanol /Tampon phosphate 0.05 M PH=6 :50% V/50% V
<b>Colonne</b>	en acier inoxydable remplie de silice greffée C18,typespherisorb 10 um, longueur 250 mm *4.6 mm
<b>Débit</b>	1.5 ml/min
<b>Volume injecté</b>	20 ul
<b>Longueur d'onde</b>	255 nm

Préparations des solutions dans cette partie sont présentées dans l'annexe 01.

Après le dosage des conservateurs par l'HPLC ont été déterminés le teneur en PHB méthyle et le teneur en PHB propyl.

- Teneur en PHB méthyle

$$\text{Titre PHBméthyle} = A_{\text{essai}} / A_{\text{standard}} * C_{\text{PHB Méthyle}} * 2000$$

A d'essai : Air du pic du PHB de méthyle dans la solution à doser.

A standard : Air du pic du PHB de méthyle dans la solution standard.

C : concentration en mg/ml du PHB de méthyle dans la solution standard.

2000 : Facteur de dilution.

- Teneur en PHB propyl

$$\text{Titre PHB propyl} = A_{\text{essai}} / A_{\text{standard}} * C_{\text{PHB propyl}} * 2000$$

A d'essai : Air du pic du PHB de propyl dans la solution à doser.

A standard : Air du pic du PHB de propyl dans la solution standard.

C : concentration en mg/ml du PHB de propyl dans la solution standard.

2000 : Facteur de dilution.

### III.4. Contrôle microbiologique de PIMAG ampoules buvables 10ml

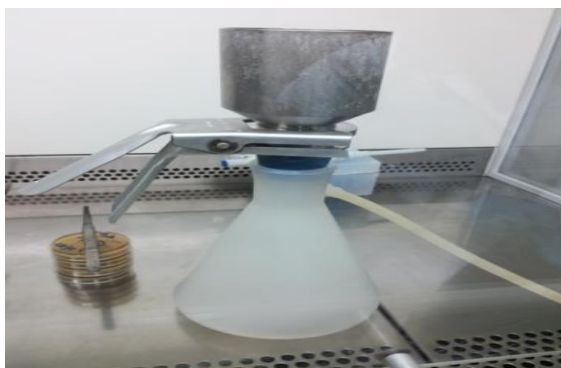
Le contrôle de la qualité microbiologique de PIMAG ampoules buvables 10 ml a été réalisé sur trois échantillons du même lot (815002), l'étude a eu lieu du 18 avril au 25 avril 2018. Et ceci afin de comparer les résultats obtenus et voir les différences qui peuvent survenir d'un échantillon à un autre; mais aussi dans le but de s'assurer qu'il est conforme aux normes sur le plan microbiologique.

Les germes recherchés et dénombrés ainsi que les méthodes utilisées sont celles préconisées par la Pharmacopée Européenne. Ces méthodes consistent à la détermination des germes aérobies totaux (bactéries, moisissures et levures) et la recherche d'*Escherichia coli*.

La recherche de micro-organismes proposée par la pharmacopée est basée sur la mise en culture en milieu liquide soit de l'échantillon lui-même (ensemencement direct), soit d'une membrane sur laquelle les micro-organismes ont été recueillis par filtration préalable du produit (filtration sur membrane). La présence d'un éventuel micro-organisme se matérialise par l'apparition, après incubation à une température et pendant une durée déterminées, d'un trouble du milieu de culture lié à sa multiplication, confirmé par comparaison avec un témoin négatif.

#### ➤ Filtration sur membrane

La priorité est donnée à cette technique à chaque fois que le produit à analyser le permet. C'est le cas de nombreuses formes pharmaceutiques liquides puisque peuvent être filtrées à la fois des solutions aqueuses, des solutions alcooliques mais également des solutions huileuses (Figure 07). Cette méthode est plus sensible que l'ensemencement direct car les volumes filtrés peuvent être importants alors que dans la première technique, on ne peut introduire qu'un volume limité de produit. En plus de sa sensibilité, la filtration permet, par la possibilité du rinçage qui élimine toute trace de produit analysé, le volume de rinçage doit être validé et il est conditionné par le volume de produit à filtrer [31].



**Figure 07 :** Filtration sur membrane

➤ **Ensemencement direct**

Cette technique a l'avantage d'être simple à réaliser puisqu'elle ne nécessite pas de traitement préalable de l'échantillon ni de matériel particulier. Ce procédé est à réserver en pratique à des produits non filtrables [32].

➤ **Travail sous flux laminaire vertical**

L'opérateur travaillant sous flux vertical porte une tenue adéquate : (Blouse, gants... etc.) qui seront décontaminés régulièrement, afin de garder au mieux les conditions aseptiques au cours de la session de travail.

Les objets sous le flux sont, l'air « propre » qui arrive perpendiculairement sur le plan de travail, est ensuite aspiré par des perforations se trouvant au niveau de l'ouverture frontale, ceci créant une barrière empêchant l'air extérieur d'entrer dans la hotte, et empêchant l'air filtré, à l'intérieur de la hotte, d'en sortir.

03 ampoules de PIMAG ampoules buvables 10 ml ont été prélevées, à différents niveaux de production (début, milieu, fin). Pour réaliser ce test nous avons préparé l'échantillon moyen.

➤ **Préparation de l'échantillon moyen**

Dans un flacon ont été mis le contenu de trois ampoules de chaque niveau de production (début, milieu, fin), puis ont été agités manuellement.

**III.4.1.Dénombrement des germes aérobies viables totaux (Bactéries aérobies +levures et moisissures)**

Technique utilisée : Filtration sur membrane

➤ **Préparation de l'échantillon X**

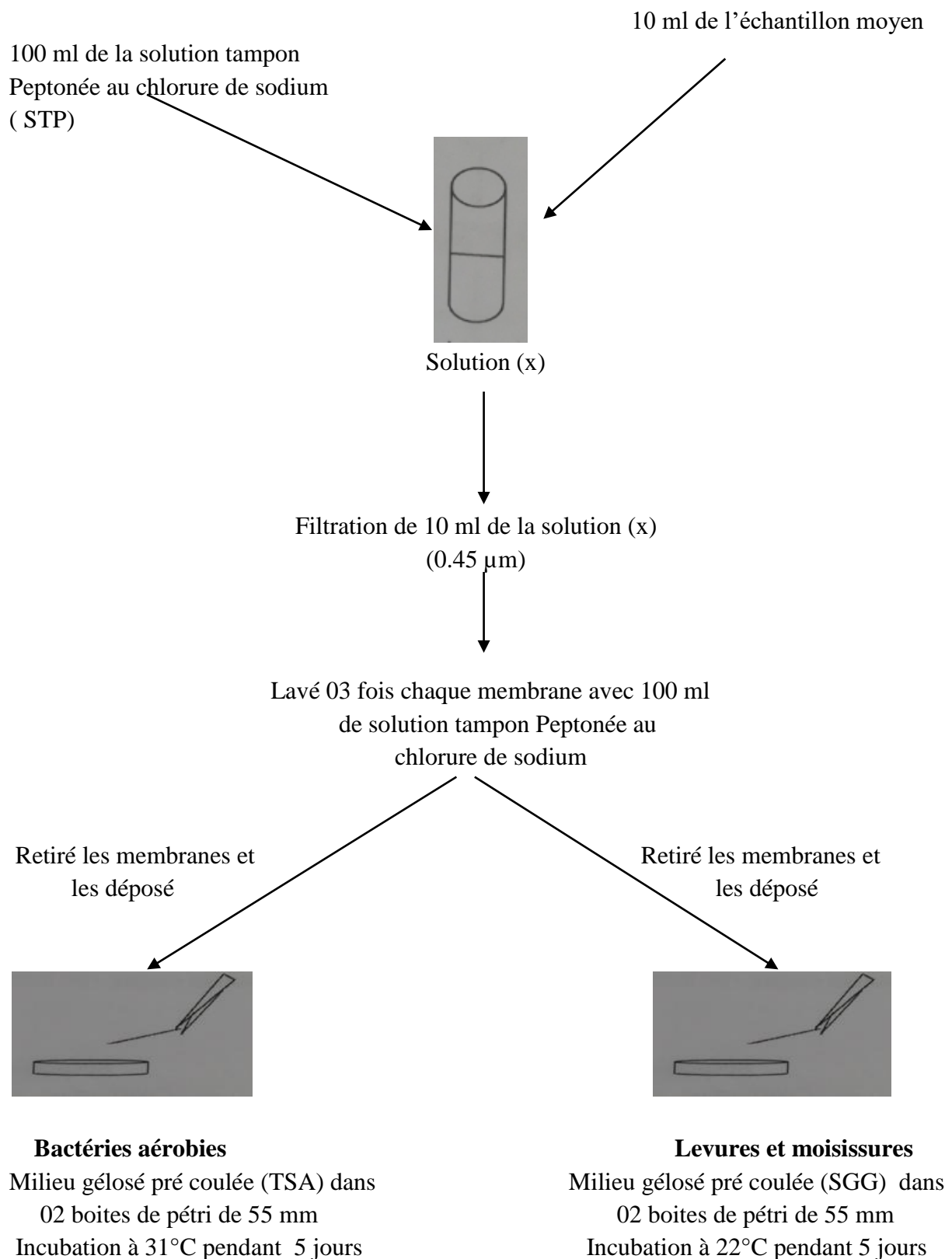
Sous hotte à flux laminaire (Holten Lamin Air ,HB 2448) et après la préparation de l'échantillon moyen ont été mélangés 10 ml de l'échantillon moyen avec 100 ml de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium, pH= 7.0 (STP) ( annexe 04).

**III.4.1.1.Dénombrement des germes aérobies viables totaux**

10 ml de l'échantillon X a été filtré (0.45  $\mu$ m) et lavé 03 fois chaque membrane avec 100 ml de solution tampon peptonée au chlorure de sodium et ont été retirés les membrane et transféré sur milieu gélosé pré coulée aux peptones de caséine et de soja (TSA) (annexe 04 ) dans 02 boîtes de pétri de 55 mm avec un témoin contenant le milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (TSA) , puis l'incubation a été fait à 31°C pendant 5 jours (figure 08) [26].

**III.4.1.2.Dénombrement des levures et moisissures**

10 ml de l'échantillon X a été filtré (0.45  $\mu$ m) et lavé 03 fois chaque membrane avec 100 ml de solution tampon peptonée au chlorure de sodium et ont été retiré les membranes et les dépose puis a été transféré sur milieu gélosé pré coulée Sabouraud Glucose -Gélosé (SGG) (annexe 04) dans 02 boîtes de pétri de 55 mm avec un témoin contenant le milieu Sabouraud Glucose -Gélosé (SGG), puis l'incubation a été fait à 22°C pendant 5 jours (figure 08)[26].

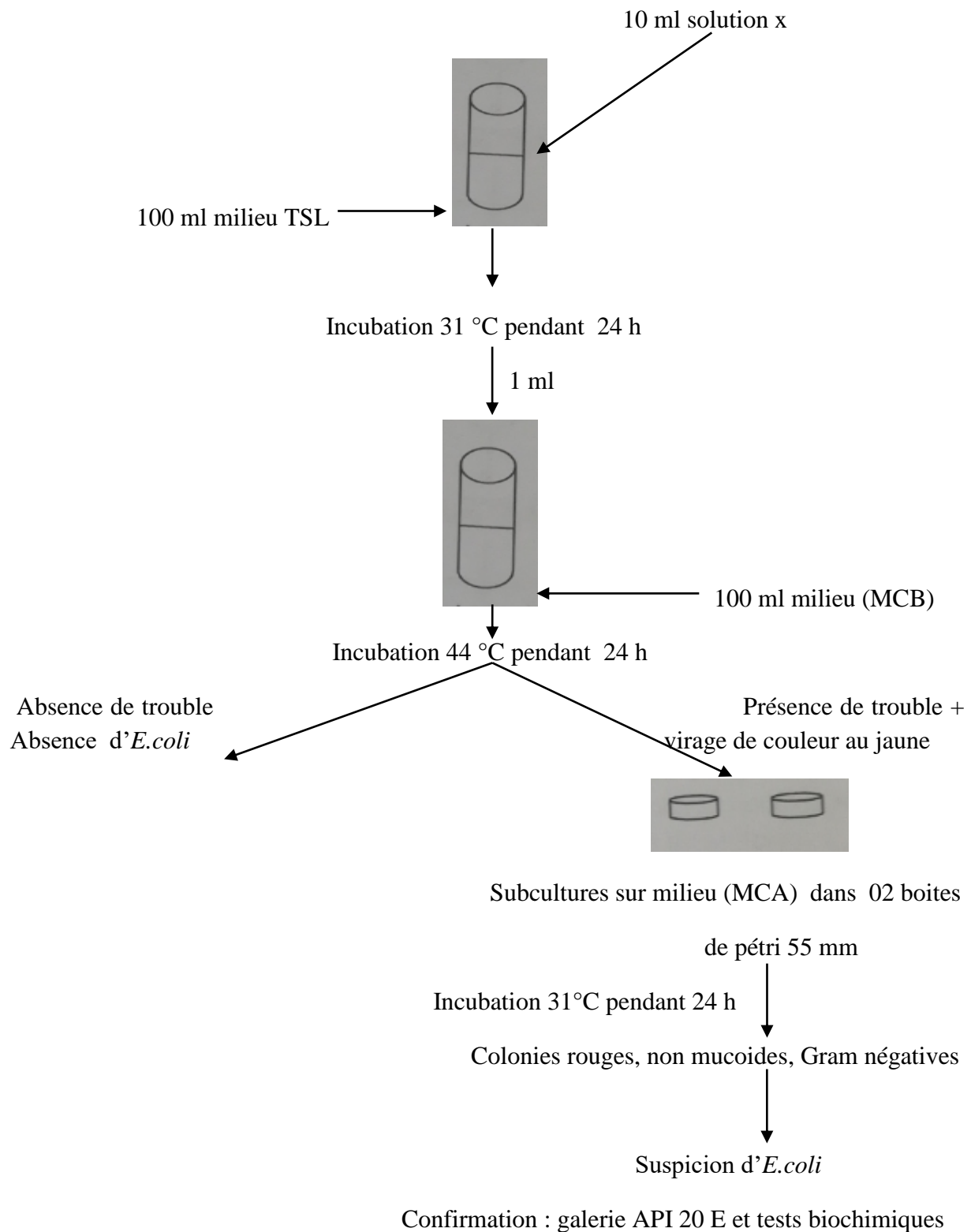


**Figure 08:** Schéma représentant la méthode de dénombrement des germes aérobies viables totaux (bactéries aérobies +levures et moisissures) par la technique de filtration sur membrane.



**III.4.2. Recherche des microorganismes spécifiques****III.4.2.1. Recherche d'*Escherichia coli***

10 ml de l'échantillon X, a été ajouté à 100 ml de milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (TSL) et incubé à 31°C pendant 24 h avec un témoin contenant le TSL, 1 ml a été transféré dans le milieu liquide de Mac ConKey (MCB) (annexe 04), et incubé à 44 °C pendant 24 h. Puis ont été ensemencé sur des boîtes de pétri contenant préalablement le milieu gélosé de Mac ConKey (MCA) (annexe 04). L'incubation a été fait à 31°C pendant 24 h (figure 09) [26].



**Figure 09:** Schéma représentant la méthode de recherche des microorganismes spécifiques (*Escherichia coli*).

## IV.1. Résultats du Contrôle physico-chimique

### IV.1.1. Résultats du Pidolate de magnésium

#### IV.1.1.1. Résultats du caractère du Pidolate de magnésium

**Tableau VI:** Résultats des tests de caractère du Pidolate de magnésium

Contrôles/tests	résultats	Normes
Aspect /couleur	Conforme	Poudre amorphe ou sensiblement blanche, hygroscopique.
Solubilité	Conforme	Soluble dans le méthanol, très soluble dans l'eau, pratiquement insoluble dans le chlorure de méthylène.

Les deux caractères (aspect /couleur) ne sont pas à interpréter au sens strict et ne sont pas considérées comme des exigences analytiques [26]. La solubilité dans d'autres solvants auxquels la substance est souvent associée en pratique (huiles grasses, etc.) peut également être mentionnée. Dans certains cas, il peut être utile de préciser la solubilité dans les bases ou les acides [26].

#### IV.1.1.2. Résultats d'identification du Pidolate de magnésium

##### ➤ Chromatographie sur couche mince

Le résultat de la chromatographie sur couche mince nous confirme l'identité du Pidolate de magnésium et répondent aux spécifications décrites dans la Pharmacopée Européenne (la tache principale du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner est semblable quant à sa position, sa coloration et ses dimensions à la tache principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin).

Cette méthode d'identification de Pidolate de magnésium a été réalisée par l'emploi de substance de référence (Acide pidolique SCR), la sélectivité a été améliorée par la

combinaison de CCM et les réactions chimiques *in situ* c'est-à-dire l'utilisation des réactifs de pulvérisation appropriés, dans ce cas, il n'y a pas lieu de répéter en tube à essai la même réaction ou une réaction similaire [34].

#### ➤ Réaction de magnésium

La formation d'un précipité blanc nous confirme la détection des ions de magnésium.



**Figure 10:** Résultat de réaction de magnésium

Le test à nous permet de vérifier si la solution (S) contient des ions de magnésium, qui sont mise en évidence par la solution d'ammoniaque et la solution de phosphate disodique successivement, car le magnésium précipite en présence de ces deux solutions selon les réactions suivantes :



#### IV.1.1.3. Résultats des essais du Pidolate de magnésium

Le résultat du pH donné par le pH mètre est : 5.95

Le pH du Pidolate de magnésium testé, se trouve dans l'intervalle exigé par la pharmacopée européenne [5.50 à 7.00], ce qui donne un pH conforme. Cet essai permet de limiter les impuretés acides ou alcalines dues à la méthode de préparation employée, ou résultant de la dégradation de la substance [26].

#### ➤ Pouvoir rotatoire spécifique

L'angle de rotation ( $\alpha$ ) de l'échantillon donné par le polarimètre est - 4.9

Calcule de pouvoir rotatoire spécifique

$$PR = (\alpha * \text{volume}) / (\text{masse} * 2)$$

$$\text{La masse corrigée} = \text{masse} - (\text{masse} * \text{teneur en eau})$$

$$PR = (- 4.9 * 50) / (4.66 * 2)$$

$$PR = - 26.26 \text{ (} ^\circ \text{ ml} * \text{g}^{-1} \text{)}$$

Le résultat de pouvoir rotatoire spécifique calculé se trouve dans les normes indiquées par la Pharmacopée Européenne [-23.30 à -26.50], donc le test est conforme et acceptable.

La mesure du pouvoir rotatoire est utilisée comme essai de pureté pour apprécier la pureté de Pidolate de magnésium qui est optiquement active en calculant le « Pouvoir rotatoire spécifique ». Il est généralement plus approprié de contrôler ces impuretés par des méthodes de séparation chirale, car le pouvoir rotatoire spécifique est souvent insuffisant. [34]

#### ➤ Substances apparentées : Chromatographie liquide à haute performance

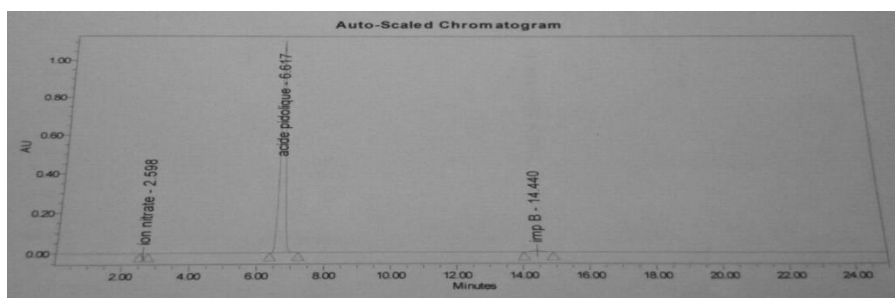
Les limites d'impureté B, impureté non spécifiées et le totale des impuretés dans le Pidolate de magnésium définies par la Pharmacopée Européenne sont formulées sous les formes suivantes :

- Impureté B : au maximum la surface du pic principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) .
- Impureté non spécifiées (inconnues) : pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (c) .
- Totale des autres impuretés : au maximum 0.5 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b).

les temps de rétention et les surfaces des pics sont les suivants :

**Tableau VII:** Résultats du solution à examiner

Nom	TR (Min)	Surface(AU*Min)
<b>Imp 1</b>	1.218	
<b>Imp 2</b>	1.576	
<b>Imp 3</b>	1.823	
<b>Ion nitrate</b>	2.598	4232
<b>Acide pidolique</b>	6.617	1080858
<b>Imp B</b>	14.440	7269
<b>Imp 4</b>	17.231	



**Figure 11** :Chromatogramme obtenu avec la solution examiner

**Tableau VIII** : Résultats du solution témoin (b)

nom	Tr ( min)	Surface (AU*Min)
Imp b pidolate	14.535	192178

**Tableau IX** : Résultats du solution témoin (c)

nom	Tr ( min)	Surface (AU*Min)
Imp b pidolate	14.586	19257

Par la comparaison des résultats, la surface du pic principale (impureté B) dans le chromatogramme de solution à examiner est 142539 AU\*Min, alors que la surface du pic principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) est 192718 (AU\*Min) (supérieur à 142539 AU\*Min) . Donc le résultats de témoin B se trouve dans les limites indiqué par les normes de Pharmacopée Européenne .

L'absence d'une surfaces correspond a les impuretés non spécifiées (1,2,3,4) dans les résultats de chromatogramme du solution à examiner nous confirme leur absence dans le Pidolate de magnésium donc le test est conforme avec les normes de Pharmacopée Européenne.

Le totale des autres impureté est la somme de surfaces des impureté inconnu non spécifiées (1,2,3,4) qui sont absents et la surface de l'impureté connu ion nitrate (4232 AU\*Min) .

$$\text{Calcule } 4232 \times 0.5 = 2116 \text{ AU*Min}$$

Par la comparaison ,cette valeur est inférieure à la surface du pic principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) qui égale à 192178 AU\*Min ,donc le

totale des impuretés autre que impureté ( B) se trouve en quantité inférieure au témoin donc le test est conforme avec les normes de la Pharmacopée Européenne .

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est la méthode plus couramment utilisée, pour contrôler les impuretés dans les industries pharmaceutique en raison de leur efficacité et sensibilité.

Dans certains cas l'électrophorèse capillaire peut être utilisée pour séparer et contrôler les impuretés lorsqu'elles sont nombreuses et présentent d'importantes différences de polarité. [35] La chromatographie en phase gazeuse aussi est utilisée pour le contrôle des impuretés mais elle est limitée aux composés thermostables et suffisamment volatils, leur place disparaît au profit de la chromatographie liquide à haute performance [36].

#### ➤ **Impureté A (Acide glutamique) : Chromatographie sur couche mince**

Le dépôt de la solution témoin présente une seule tache ( $R_F=0.7$ ), Le dépôt de la solution à examiner ne présente aucune tache.

L'absence d'une tache correspond à la solution examiner nous confirment l'absence de l'impureté A (acide glutamique) dans le Pidolate de magnésium et cela selon les normes de la Pharmacopée Européenne qui exige : s'il apparaît une tache due à l'impureté A, elle n'est pas plus intense que la tache du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

La CCM ne doit être utilisée que pour le contrôle d'une impureté spécifiée, lorsque ni la chromatographie liquide à haute performance, ni la chromatographie en phase gazeuse ne conviennent [26].

#### ➤ **Test de Chlorures (impureté)**

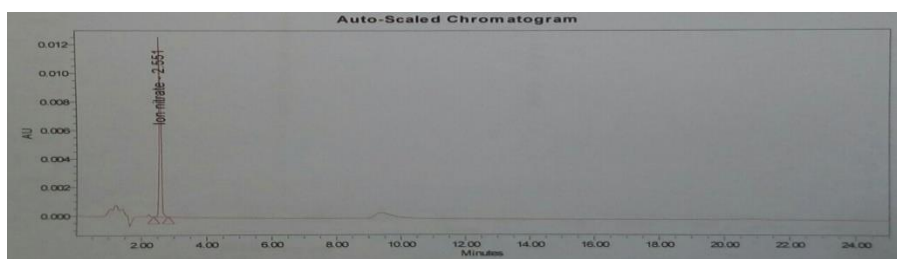
Après 5 min à l'abri de la lumière, la solution témoin présente une opalescence, alors que la solution examinée présente une opalescence qui n'est pas prononcée que celle du témoin.

Ces résultats nous confirment que le taux de Chlorures (impureté) dans le Pidolate de magnésium, est inférieure ou égale 500 ppm selon les normes de la Pharmacopée Européenne qui exige : Après 5 min à l'abri de la lumière, si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci n'est pas plus prononcée que celle du témoin (au maximum 500 ppm).

➤ **Test de Nitrates (impureté)**

**TableauX** :Les résultats de solution témoin (d)

nom	Tr (min)	Surface (AU*Min)
Ion nitrate	2.551	50658



**Figure 12** : Chromatogramme obtenu avec la solution témoin (d)

Selon les normes de la Pharmacopée Européenne, pour détecter la présence de Nitrates dans le principe actif on examine le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner dans l'essai des substances apparentées. La surface du pic principale des ions Nitrate dans la solution examiner doit être au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (d) (200ppm).

La surface du pic principale des ions Nitrate dans la solution examiné qui égale à 4232 est inférieure à la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (d) qui égale à 50658. Le test donc est acceptable et conforme avec les normes de la Pharmacopée Européenne.

➤ **Test de Sulfates (impureté)**

Après 5 min, la solution témoin présente une opalescence, alors que la solution examinée présente une opalescence qui n'est pas prononcée que celle du témoin. Le test donc est acceptable et conforme avec les normes de la pharmacopée Européenne qui exige : Après 5 min, si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci n'est pas plus prononcée que celle du témoin.

La teneur de Pidolate de magnésium en anions et/ou cations étrangers peut constituer un indicateur du niveau de purification assuré. Elle peut également révéler une éventuelle contamination par des substances étroitement apparentées, les tests effectués pour la détection



des sulfates, nitrates, et chlorures nous permettent de s'assurer la pureté de Pidolate de magnésium contrôlé [31].

➤ **Test de Fer (impureté)**

Après 5 min, la solution témoin présente une coloration rose, alors que la solution examinée ne présente aucun changement. Ces résultats nous confirment l'absence de Fer (impureté) dans le Pidolate de magnésium, qui doit être inférieure ou égale 200ppm selon les normes de la Pharmacopée Européenne qui exige : Après 5 min, la coloration rose éventuelle de la solution a examiné n'est pas plus intense que celle du témoin (au maximum 200ppm).

Les mesures des métaux lourds sont des opérations délicates à mener, d'autant plus que le nombre d'éléments est grand et qu'ils sont présents le plus souvent à l'état de traces. Les méthodes de mesure sont très variées et ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients, le choix de l'une d'elles dépendra de l'exploitation que l'on désire faire du résultat [37].

➤ **Teneur en eau**

La teneur en eau de l'échantillon indiqué par le titrateur KF est 6.75% .Le résultat se trouve dans la norme citée dans la Pharmacopée Européenne ( $\leq 8\%$ ) donc c'est acceptable est conforme.

La teneur en eau peut également être déterminée par d'autres méthodes, mais la méthode de KF présente une exactitude extrême, elle est basée sur une réaction chimique qui dépend de la présence de l'eau aussi cette méthode est spécifique pour la détermination de l'eau parce qu'elle ne trouve pas la perte d'aucune autre substance volatile à la différence d'autres méthodes telles que la perte sur le séchage qui sont basées sur la perte provoquée par la chaleur d'humidité et la réduction donnant droit du grammage de l'échantillon.[29]

**IV.1.1.4. Résultats du dosage de magnésium (Complexométrie)**

- Echantillon 1

$$T \% = (10.05 \times 2.431 / 279.9365) \times 100$$

$$T \% = 8.73\%$$

- Echantillon 2

$$T \% = (10.1 \times 2.431 / 279.9365) \times 100$$

$$T \% = 8.77\%$$

- La moyenne des deux échantillons : 8.75 %
- Normes : 8.49% à 8.84%

Le résultat de dosage de magnésium par compléxométrie est conforme avec les normes de la Pharmacopée Européenne donc c'est acceptable.

En raison des manipulations effectuées, l'exactitude et la sensibilité de la méthode utilisée peu être moindres par rapport d'autre méthode utilisé généralement dans le dosage. La spectrophotométrie peut présenter une exactitude et une sensibilité acceptables [26].

Une fois que le principe actif est contrôlé, un certificat de conformité a été établi par l'opérateur vérifié par l'examineur puis validé.

Le contrôle effectué permet de s'assurer que seul le principe actif conforme à la spécification exigées est utilisé, seulement les matières contrôlés sont autorisés a entrés réellement sur le site de production.

#### IV.1.2. Résultats du PIMAG ampoule buvable

##### IV.1.2.1. Résultats du caractère du PIMAG ampoule buvable

**Tableau XI :** Résultat du caractère du PIMAG ampoule buvable

Contrôles /Tests	Résultat	Normes/Spécification
Aspect/couleur	Conforme	Solution limpide, légèrement visqueuse.
Odeur	Conforme	Odeur d'orange

Les caractères (aspect/couleur/odeur) ne sont pas considérés comme des exigences analytiques mais les utilisateurs de la Pharmacopée Européenne persistent à le faire dans le cadre de contrats d'achat [26].

##### IV.1.2.2. Résultats des essais du PIMAG ampoule buvable

###### ➤ Volume de contenu des ampoules

$$V_m (\text{ml}) = V_E (\text{ml}) / N$$

VE= Volume contenu dans l'éprouvette.

N = Nombre des ampoules utilisées.

V<sub>m</sub> = Volume moyen.

Début : V<sub>m</sub> (ml)= 99.3 (ml) / 10=9.93 ml

Milieu : V<sub>m</sub> (ml)= 99.3 (ml) / 10=9.93 ml

Fin : V<sub>m</sub> (ml)= 99.3 (ml) / 10=9.93 ml

**Tableau XII:** Résultat du volume moyen du PIMAG ampoule buvable

Niveau de production	Volume (ml)	Moyenne	Résultat	Normes/spécification
Début	9.80 ml	9.93ml	Conforme	9.50ml à 10.50ml
Milieu	10.00ml			
Fin	10.00 ml			

Le volume moyen que peut contenir une ampoule de PIMAG ampoules buvables 10ml est acceptable, vue que la norme est comprise entre 9.50et 10.50 ml.

➤ **Uniformité du volume**

Le volume de 20 ampoules lit séparément est présentée dans le tableau

**Tableau XIII:** Résultat du volume de 20 ampoules du PIMAG ampoule buvable

N de prélèvement	Volume(x) ml
1	10.00
2	09.90
3	10.00
4	10.00
5	09.80
6	09.80
7	09.80
8	09.90

9	09.80
10	10.00
11	10.20
12	10.10
13	09.60
14	09.60
15	09.60
16	10.10
17	09.90
18	09.90
19	10.00
20	10.00
Volume moyen	09.90

**Tableau XIV:** Les normes de l'uniformité de volume du PIMAG ampoule buvable

T1 (+/- 10%)	8.91	10.89
T2 (+/- 20%)	7.92	11.88
N valeurs hors T1	0	
N valeurs hors T2	0	
Norme	02 échantillons au plus peuvent s'écarter de (+/- 10%), aucun échantillon ne doit s'écarter de (+/- 20%)	
Résultat	Uniformité de volume est conforme	

Les ampoules de PIMAG 10ml ont presque un même volume pour l'ensemble des ampoules de même lot testés, donc les résultats sont dans les normes.

#### ➤ pH de la solution

Cet essai permet de limiter les impuretés acides ou alcalines dues à la fabrication de médicament [26].

**Tableau XV:** Résultat du pH du PIMAG ampoule buvable

Niveau de production	pH	Moyenne	Résultat	Normes/spécification
Début	5.94	5.92	conforme	5.50 à 6.50
Milieu	5.91			
Fin	5.90			

➤ **Densité**

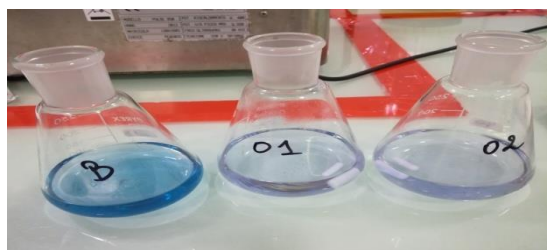
**Tableau XVI:** Résultat de la densité du PIMAG ampoule buvable

Niveau de production	Densité g/ml	Moyenne	Résultat	Normes/spécification
Début	1.17	1.17	Conforme	1.16 à 1.20
Milieu	1.17			
Fin	1.17			

#### IV.1.2.3. Résultats du dosage du PIMAG ampoule buvable

➤ **Dosage du principe actif : magnésium par complexométrie**

Les résultats obtenus après le titrage du principe actif contenu dans le produit fini avec de l'EDTA de sodium à 0.1M, c'est le virage du rouge au bleu permettant de déterminer le point d'équivalence qui correspond au volume l'EDTA de sodium nécessaire pour atteindre l'équilibre.



**Figure 13:** Résultat de dosage de principe actif par complexométrie (B : blanc ; 01 et 02 : solution à doser)

La quantité de magnésium en mg contenue dans une ampoule de 10 ml sera égale à :

- Echantillon 1                    **Titre**=4.925ml -0 ml/1ml\*2.431\*10=119.73 mg/10ml
- Echantillon 2                    **Titre**=4.925ml -0 ml/1ml\*2.431\*10=119.73 mg/10ml
- La moyenne des deux échantillons 119.73mg /10ml

Le titre obtenu pour le principe actif dans le mélange correspond parfaitement au milieu des limites de la norme [115.90 -128.10mg/10ml], le test est conforme donc le produit fini est fabriqué dans de bonnes conditions pour avoir l'effet thérapeutique escompté.

Cette méthode de dosage peut être pas fiable en raison des manipulations effectuées. Les industries pharmaceutiques préfèrent généralement les méthodes chromatographiques qui sont plus fiables et plus sensibles, ces méthodes impliquent l'utilisation d'une substance chimique de référence ayant une teneur assignée en substance a dosée [38].

➤ **Dosage des conservateurs : PHB de méthyle et de propyl par HPLC**

Les résultats obtenus du standard des conservateurs (PHB méthyle et PHB propyl) et l'essai de PIMAG ampoule buvable 10ml sont présentés sur les tableaux suivants :

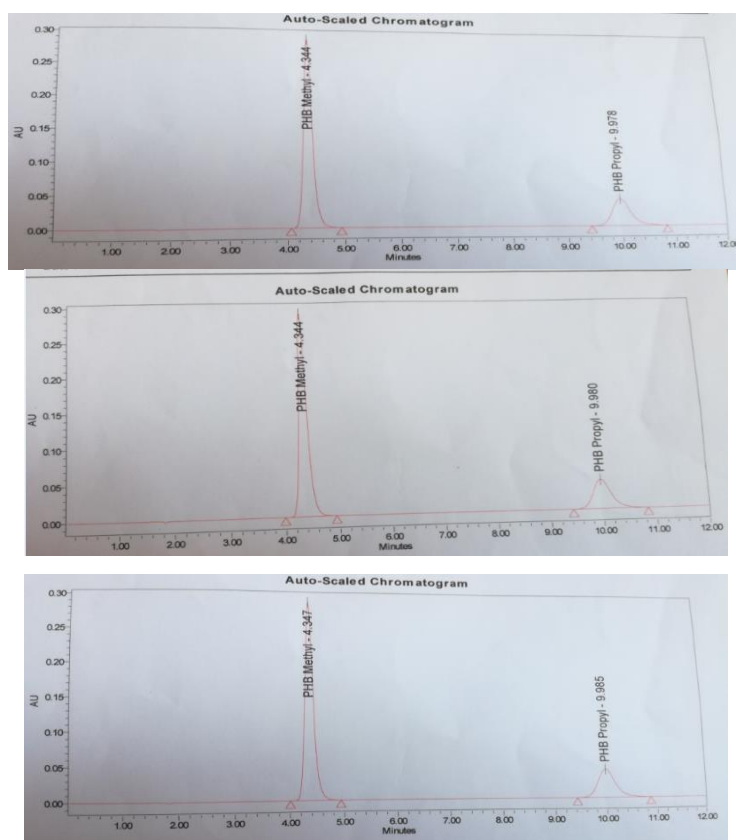
**Tableau XVII :** Air du pic (AU\*Min) et TR (min) du standard des conservateurs (PHB méthyle et PHB propyl) du PIMAG ampoule buvable

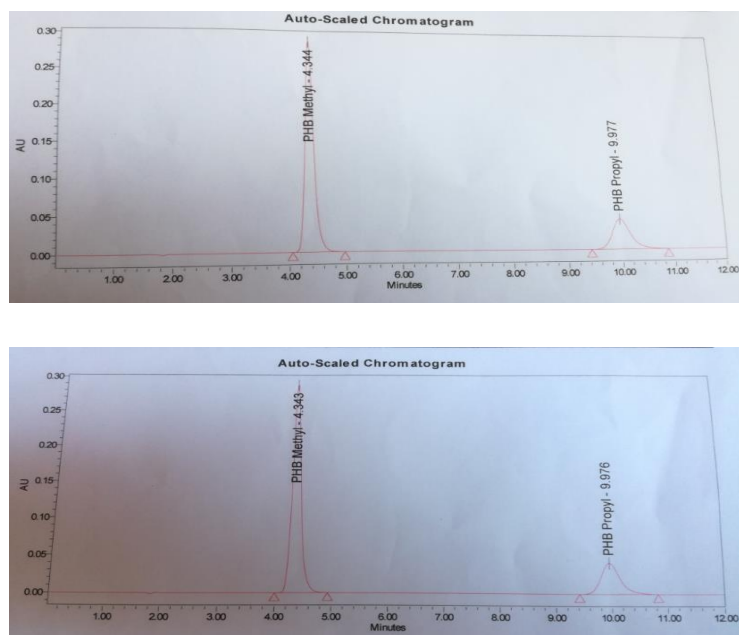
		Air du pic (AU*Min)	TR (min)
<b>PHB Methyl</b>	Injection01	3110422	4.344
	Injection02	3109086	4.347
	Injection03	3108834	4.344
	Injection04	3108245	4.344
	Injection05	3104460	4.343
	<b>Moyen</b>	3108210	4.3
<b>PHB Propyl</b>	Injection01	996378	9.980
	Injection02	1003212	9.985
	Injection03	996169	9.978
	Injection04	996438	9.977
	Injection05	992823	9.976
	<b>Moyen</b>	997004	10

**Tableau XVIII:** Air du pic (AU\*Min) et TR (min) du l'essai du PIMAG ampoule buvable

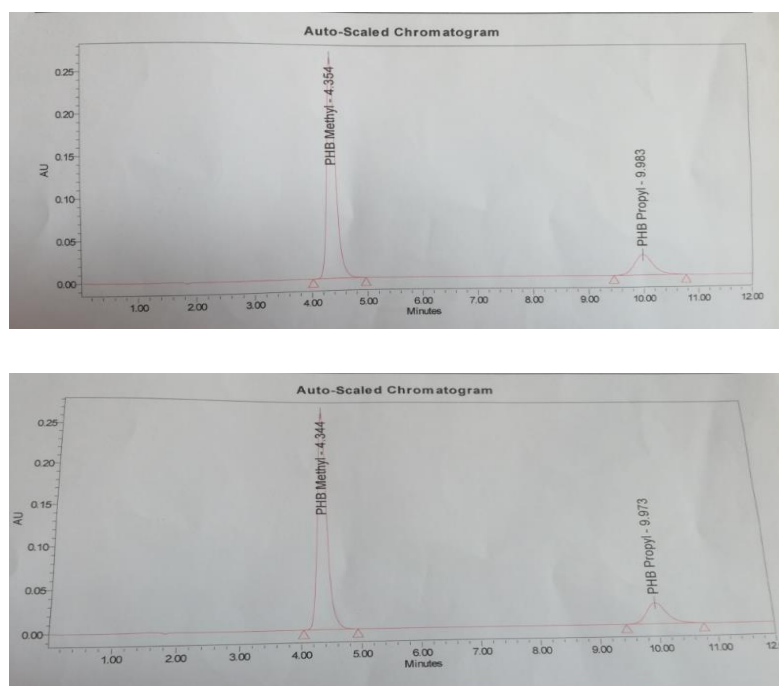
		Air du pic AU*Min	TR (min)
<b>PHB Methyl</b>	Injection01	2888318	4.354
	Injection02	2885459	4.344
<b>PHB Propyl</b>	Injection01	597977	9.983
	Injection02	595904	9.973

Les chromatogrammes obtenus du standard des conservateurs (PHB méthyle et PHB propyl) et l'essai du PIMAG ampoule buvable 10ml sont présentés sur les figures suivants :





**Figure 14:** Chromatogrammes du standard du 05 injection 1,2,3,4,5 des conservateurs (PHB méthyle et PHB propyl ) du PIMAG ampoule buvable 10ml détectés à 255 nm



**Figure15 :** Chromatogrammes du l'essai du 02 injections du PIMAG ampoule buvable 10ml détectés à 255 nm

Ces chromatogrammes et tableaux montrent que les pics de temps de rétention identique au standard de référence pour PHB de méthyle et de propyl ce qui indique la conformité du produit testé.



La teneur en PHB méthyle et en PHB propyl a été démontré par les calculs suivants :

➤ Teneur en PHB méthyle

Titre PHB méthyle =  $(A_{\text{essai } 01} / A_{\text{standard moy}} * C_{\text{PHB Méthyle}} * 2000) + (A_{\text{essai } 02} / A_{\text{standard moy}} * C_{\text{PHB Méthyle}} * 2000) / 2$ .

$A_{\text{essai } 01} / A_{\text{standard moy}} * C_{\text{PHB Méthyle}} * 2000 = 2888318/3108210 * (0.04 * 100.95/100) \text{ mg/ml} * 2000 = 74.46 \text{ mg/100ml}$ .

$A_{\text{essai } 02} / A_{\text{standard moy}} * C_{\text{PHB Méthyle}} * 2000 = 2885459/3108210 * (0.04 * 100.95/100) \text{ mg/100ml} * 2000 = 74.43 \text{ mg/100ml}$ .

Titre PHB méthyle =  $(74.46 + 74.43) / 2 = 74.45 \text{ mg/100ml}$ .

➤ Teneur en PHB propyl

Titre PHB propyl =  $(A_{\text{essai } 01} / A_{\text{standard moy}} * C_{\text{PHB propyl}} * 2000) + (A_{\text{essai } 02} / A_{\text{standard moy}} * C_{\text{PHB propyl}} * 2000) / 2$ .

$A_{\text{essai } 01} / A_{\text{standard moy}} * C_{\text{PHB propyl}} * 2000 = 597977/997004 * (0.015 * 99.94/100) \text{ mg/ml} * 2000 = 18 \text{ mg/100ml}$ .

$A_{\text{essai } 02} / A_{\text{standard moy}} * C_{\text{PHB propyl}} * 2000 = 595904/997004 * (0.015 * 99.94/100) \text{ mg/ml} * 2000 = 17.98 \text{ mg/100ml}$ .

Titre PHB propyl =  $(18 + 17.98) / 2 = 17.99 \text{ mg/100ml}$ .

Les résultats obtenus confirment que le teneur en PHB méthyle et le teneur en PHB propyl sont conformes à la norme de la Pharmacopée Européenne (la norme de PHB méthyle est 60 à 88 mg/100ml et la norme de PHB propyl est 15 à 22 mg/100ml).

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est la méthode plus utilisée pour le dosage dans les industries pharmaceutique, les méthodes de mesures directes et les analyse volumétrique sont aussi utilisées mais la sensibilité de ces méthodes reste toujours moindre par rapport à la méthode chromatographique [26].

## IV.2. Résultats du contrôle microbiologique du PIMAG ampoule buvable 10 ml

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



**Figure 16:** Compteur des colonies (COLONY COUNTER ,50971)

Les résultats du contrôle microbiologique de produit fini PIMAG ampoules buvables 10ml sont récapitulés dans le tableau XIX :

**Tableau XIX:** Résultat du contrôle microbiologique du PIMAG ampoule buvable

Paramètre	Résultats	Normes
Dénombrement des germes aérobies viables totaux	00 UFC / ml	$\leq 100$ UFC / ml
Dénombrement des levures et moisissures	00 UFC / ml	$\leq 10$ UFC / ml
Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	Absence	Absence

**Figure17** : Absence de *E.coli***Figure18** : Absence des germes aérobies viables totaux**Figure19** : Absence des levures et moisissures

Selon la pharmacopée européenne, le produit fini (PIMAG ampoules buvables 10ml) est satisfait à l'essai, dont il ya une absence totale de germes aérobies viable totaux, des levures et moisissures, ainsi pour les germes spécifiques d'*E.coli*, et ce indique que le produit fini est conforme (figure13,14 ,15).

Les techniques de contrôle microbiologique mises en œuvre dans l'industrie pharmaceutique sont standardisées par les Pharmacopées. Elles ont souvent un temps de réponse relativement long et sont difficilement automatisables. D'autres industries, alimentaires, cosmétiques, ont déjà pu bénéficier de techniques alternatives. Sous réserve d'une validation, certaines de ces techniques semblent pouvoir être adaptées au domaine pharmaceutique. Il ya deux groupes de techniques, celles correspondant à l'amélioration d'une méthode classique détectant une croissance (par l'amélioration de préparation des échantillons, les milieux de culture et les méthodes d'ensemencement) et les techniques alternatives de détection rapide qui vont améliorer de temps en supprimant ou en raccourcissant la phase de croissance bactérienne nécessaire dans les techniques classiques pour visualiser les micro-organismes . Parmi les techniques rapides et alternatives il ya des techniques moléculaires et génotypiques basé sur l'identification des gènes des bactéries [39].

A la fin des tests de contrôle physico-chimiques et microbiologique du PIMAG ampoule buvable, un certificat de conformité a été établi par l'opérateur vérifié par l'examineur puis validé.

## Conclusion

---

Dans cette étude, un contrôle physico-chimique et microbiologique d'un médicament partant de son principe actif jusqu'au produit fini a été effectué dont le but de confirmer la conformité de toutes ces substances avec les normes de la pharmacopée européenne 8ème édition.

Les résultats obtenus, de ces tests, permettant de conclure que le principe actif (Pidolate de magnésium) et le produit fini (PIMAG ampoule buvable 10 ml), présente une excellente qualité physico-chimique et microbiologique.

Les tests effectués sur le principe actif nous permettant de bien identifié la substance (Pidolate de magnésium) et aussi de s'assurer leur sécurité et qualité à partir des essais effectué dans la recherche des impuretés A et B et les autres impuretés telle que le Fer, les Chlorure et les Nitrates ...

Les résultats du contrôle de principe actif nous permettent de délivrer aux ateliers de production, une matière premières sûres et conformes.

Les tests physicochimiques effectués sur le produit fini nous permettant de caractériser l'aspect, la couleur et l'odeur de médicament, ainsi que de doser le principe actif (magnésium) et les conservateur utilisé (PHB de méthyle et de propyl), les résultats sont adéquats aux normes définis par la Pharmacopée Européenne.

Les résultats du contrôle microbiologique du produit fini ont montré l'absence totale des germes aérobies viables totaux, des levures et moisissures aussi une absence totale de *d'Escherichia coli*.

Le contrôle du produit fini nous permet de s'assurer que le produit obtenu est conforme aux besoins du client et que le médicament est produit avec une qualité physicochimique et microbiologique régulière.

Afin de compléter cette étude, il est souhaitable d'effectuer des tests majeurs comme les tests de toxicité pour le produit fini et les tests microbiologiques pour le principe actif.

## Références bibliographiques

- [01] **Muller S.** (2011). L'industrie pharmaceutique et l'État : Comment garantir la santé sans nuire au commerce ? .Université de Lille 1, Clersé-CNRS. P : 37.
- [02] **Le Hir A.** (2001). Pharmacie galénique, bonne pratique de fabrication des médicaments. 7<sup>ème</sup> Edition, Masson, Paris. Pp : 120-269.
- [03] **Lanet J.** (1991). La qualité pharmaceutique. Edition santé. P : 23.
- [04] **Scriban R.** (1999). Biotechnologie. 5<sup>ème</sup> édition. Tec&Doc. Paris. Pp : 920-927.
- [05] **Chirac J.** (2007).LOI n° 2007-248 du 26 février 2007 portant diverses dispositions d'adaptation au droit communautaire dans le domaine du médicament (1). JORF n°49 du 27 février 2007, texte n° 3. P : 3503.
- [06] **Hallouet P., Dagorne G. et Yhuel V.** (2016). Pharmacologie et thérapeutiques. Méga Mémo IFSI. Elsevier Masson, France. Pp : 396-412.
- [07] **Baxerres C.** (2011). « Pourquoi un marché informel du médicament dans les pays francophones d'Afrique ? ».Politique africaine N°123. Pp : 117-136.
- [08] **Organisation mondiale de la Sante.** (1994). Documents fondamentaux. 40<sup>ème</sup> édition. Genève. P : 3.
- [09] **Eureka Santé.** (2014). Les différentes formes de médicaments. Disponible sur : [eurekasante.vidal.fr](http://eurekasante.vidal.fr) (consulté le 06/06/2018).
- [10] **Champe CP., Harvey AR. et Mycek JM.** (2000). Pharmacology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2<sup>ème</sup> édition. Pp: 04- 16.
- [11] **Pharmacopée européenne 6.0 chapitre 5.1.4.** Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques. Pp : 567- 569.
- [12] **Huyart A., Dimerman S. et Lauzier F.** (1998).La prévention du risque toxique lié à la fabrication des médicaments.IN : dossier médico technique, unité hygiène industrielle et pathologie professionnelle, prévention des risques professionnels, 75 TC 69, Caisse régionale d'assurance maladie d'Ile-de-France, Paris. Pp : 231-250.
- [13] **Lechat P.** (2007). Pharmacologie. Edition CHU- PS, Paris. Pp : 65-75- 76.

- [14] **Martinus N.** (2001). Pharmacopée Européenne. 4<sup>ème</sup> édition, Strasbourg. Cedex France conseil de l'Europe. 54890 p.
- [15] **Feirberg M.** (1999). L'assurance qualité dans les laboratoires agroalimentaires et pharmaceutiques. Edition Tec&Doc, Paris. Pp : 2-3.
- [16] **Mansouri B.** (2008). Réglementation, qualité et problématiques des médicaments, expérience algérienne .Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, Conférence sur les systèmes de santé en Afrique OMS AFRO, Ouagadougou. Pp : 3-5.
- [17] **Organisation mondiale de la Sante.** (1998). Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques : Recueil de directives et autres documents. Volume 1, Genève. Pp : 1-2.
- [18] **Le hir A.** (1988). Evolution de la maîtrise qualité dans l'industrie du médicament. Conception moderne du contrôle. S.T.P Pharma Pratiques .Pp :44- 50.
- [19] **Holloway K.** (2004). Les comités pharmaceutiques et thérapeutiques .Guide pratique, OMS, Genève. 59 P.
- [20] **Albert L., Cœur A., Lespagnol C .et Lesieur D.** (1974). Chimie des médicaments. Tome 1<sup>ère</sup> édition, Maloine, Paris. Pp : 234-324-403.
- [21] **Duguet C.** (2014). Pharmacopée européenne. Faculté de pharmacie, Université Paris sud. P : 02.
- [22] **Sadeghipour F.** (2009). Règles des bonnes pratiques de fabrication de médicaments en petites quantités .Pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG), Genève, Suisse. Pp : 93-108.
- [23] **Le hir A.** (1997) .Pharmacie galénique bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Masson éditeur, France. Pp: 35-39.
- [24] **Kopp–kubel S.** (1998). Good Manufacturing Practices (GMP) in Pharmaceutical Production. OMS, Genève. Pp : 45-47.
- [25] **International Finance Corporation.** (2007). Directives environnementales, sanitaires et sécuritaires pour la fabrication de produits pharmaceutiques et biotechnologiques. World Bank Group .Pp : 1-10.
- [26] **Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé (EDQM).** (2015). Guide technique pour l'élaboration des monographies. Pp : 9-20.Disponible sur : [www.edqm.eu](http://www.edqm.eu).

- [27] **Martin Lowry T.** (1934). Le pouvoir rotatoire optique. J. Phys. Radium, 5 (6), Pp.225-229. Disponible sur : <10.1051/jphysrad:0193400506022500>. <jpa-00233228>.
- [28] **Cuq JL.** (2001). Cours chromatographie liquide .Université Montpellier .P :3.
- [29] **Dgraeve J., Berthou F.** (1986). Méthodes chromatographiques. 2<sup>ème</sup> édition. 392 P.
- [30] **Ozcep F., Asci M., Tezel O., Yas T., Alpaslan N. et Gundogdu D.** (2005). « Relationships Between Electrical Properties (in Situ) and Water Content (in the Laboratory) of Some Soils in Turkey ». Geophysical Research Abstracts, vol. 7.
- [31] **Akers M.** (1984). Pyrogen testing in parenteral quality control sterility, pyrogen, particular and package integrity testing .03<sup>rd</sup> Edition, New York. 272 P.
- [32] **Leclere H., Gaillard J. et Simonet M.** (1995). Microbiologie générale. La bactérie et le monde bactérien, Doin, Paris. Pp : 505- 507.
- [33] **Compendium of Chemical Terminology.** (1997). planar chromatography IUPAC. 2<sup>nd</sup> éd. 1 670 P. Disponible sur : <http://goldbook.iupac.org/pdf/goldbook.pdf>.
- [34] **Collet J., Crassous J., Dutasta P. et Guy L.** (2006). Molécules chirales, Stéréochimie et propriétés. CNRS Editions, EDP sciences.
- [35] **Cinquin A., Roberti P., Giannithi L. et Longo F.** (2003). Chromatography. Pp : 221-987.
- [36] **Gwenola B., Jean-Louis B.** (2011). Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications. Lavoisier, 3<sup>ème</sup> édition. Disponible sur : <https://nantilus.univ-nantes.fr/>.
- [37] **Dibenedetto M.** (1997). Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne. P : 5.
- [38] **Herman B., Dauchot J. et Dumont F.** (2007). Chimie analytique. 7<sup>ème</sup> édition. 703 P.
- [39] **Petat E.** (1996). Les méthodes alternatives de contrôle microbiologique. Présentation des principales techniques rapides. Rapport d'une commission SFSTP. STP Pharma Pratiques. Pp : 281-301.

## **Annexe 01 : Préparation des solutions**

### **1. Solution préparé dans partie Pidolate de magnésium**

#### **Solutions de chromatographie sur couche mince (identification du Pidolate de magnésium)**

##### **➤ Solution concentrée d'hypochlorite de sodium**

Afin de préparer cette solution une masse de 2.5g d'iodure de potassium a été dissous dans l'eau distillée puis le volume a été complété à 100 ml avec le même solvant.

##### **➤ Solution amidonnée d'iodure de potassium**

Afin de préparer cette solution une masse de 0.75g d'iodure de potassium a été dissous dans 100ml d'eau la solution a été chauffé à ébullition, puis avec agitation une solution de 0.5g d'amidon soluble dans 35ml d'eau a été ajouté le mélange a été chauffé à ébullition pendant 2min.

##### **➤ Préparation de la solution à examiner**

Afin de préparer cette solution une quantité de 60 mg de pidolate de magnésium a été dissous dans 2ml d'eau distillé, le volume a été complété à 10 ml avec du méthanol.

##### **➤ Préparation de la solution témoin**

Cette étape a été effectué par la même méthode de préparation de la solution à examiner le Pidolate de magnésium a été remplacé par 55mg d'acide pidolique SCR.

#### **Solutions de réaction du magnésium**

##### **➤ Ammoniaque diluée**

Afin de préparé cette solution 41g d'ammoniaque concentrée a été pesée et dissous dans l'eau par agitation, le volume a été complété à 100 ml par le même solvant.

##### **➤ Solution de chlorure d'ammonium**

Afin de préparé cette solution 10.7g de chlorure d'ammonium concentrée a été pesée et dissous dans l'eau par agitation, le volume a été complété à 100 ml par le même solvant.

##### **➤ Solution de phosphate disodique**

Afin de préparé cette solution 9g l'hydrogénophosphate de sodium a été pesée et dissous dans l'eau par agitation, le volume a été complété à 100 ml par le même solvant.



➤ **Solution S**

A l'aide d'une balance électrique une masse de 5.0027g de Pidolate de magnésium a été posé et dissous dans l'eau exempte de dioxyde de carbone préparé à partir d'eau distillé, le volume a été complété à 50ml avec le même solvant.

**Solution de chromatographie liquide à haute performance**

➤ **Solution à 100 ppm de nitrate (NO<sub>3</sub>)**

Une quantité de nitrate de potassium correspondant à 0.815g de KNO<sub>3</sub> a été dissous dans l'eau purifiée puis le volume a été complété à 500ml avec le même solvant. la solution a été diluée au 1/10 avec de l'eau immédiatement avant l'emploi.

➤ **Solution à examiner**

Dans une fiole de 100ml, une masse de 0.5g de Pidolate de magnésium a été dissous dans la phase mobile par agitation mécanique et à l'aide d'un agitateur magnétique, puis nous avons complété le volume à 100ml avec la phase mobile déjà préparé.

➤ **Solution témoin (a)**

A l'aide d'une pipette de 1 ml nous avons prélevé 1ml de solution à examiner, puis le volume a été complété à 100ml avec la phase mobile.

➤ **Solution témoin (b)**

Afin de préparer la Solution témoin (b), 50mg d'impureté B de Pidolate SCR a été dissous dans la phase mobile puis le volume a été complété à 100ml avec le même solvant. 5ml de la solution préparée a été prélevé puis le volume a été complété à 50ml avec la phase mobile.

➤ **Solution témoin (c)**

10 ml de la solution témoin (b) a été prélevé puis le volume a été complété à 100ml avec la phase mobile.

➤ **Solution témoin (d)**

A l'aide d'une pipette de 1 ml nous avons prélevé 1ml de solution à 100ppm de nitrate (NO<sub>3</sub>), puis le volume a été complété à 100ml avec la phase mobile.

**Solution de chromatographie sur couche mince (essais)**

➤ **Solution de ninhydrine**

Afin de préparer la solution de ninhydrine, une quantité de 0.2g de ninhydrine a été dissous dans 5ml d'acide acétique dilué puis le volume a été complété à 100ml avec de butanol.

➤ **Solution témoin (a)**

Afin de préparer la solution témoin (a) 60mg de d'acide glutamique a été dissous dans 50 ml d'eau purifié, puis le volume a été complété à 100ml avec le méthanol. 1ml de la solution préparer a été prélevé puis le volume a été complété à 20 ml avec de méthanol.

**Solutions de test des chlorures**

➤ **Acide nitrique dilué**

Afin de préparer cette solution 20 g d'acide nitrique a été dissoute dans l'eau distillée puis le volume a été complété à 100ml avec le même solvant.

➤ **Solution de nitrate d'argent**

Afin de préparer cette solution 1.7 g de nitrate d'argent a été dissoute dans l'eau distillée puis le volume a été complété à 100ml avec le même solvant (conservation à l'abri de la lumière)

➤ **Solution de 5ppm de chlorure (Cl)**

Afin de préparer cette solution une quantité de chlorure de sodium correspondant à 0.824g a été dissous dans l'eau distillée puis le volume a été complété à 1000ml avec le même solvant. la solution a été diluée au 1/100 avec l'eau distillée immédiatement avant l'emploi.

**Solutions de test de sulfates**

➤ **Solution à 10ppm de sulfate (SO<sub>4</sub>)**

Afin de préparer cette solution une quantité de sulfate dipotassique correspondant à 0.181g a été dissous dans l'eau distillée puis le volume a été complété à 100ml avec le même solvant. la solution a été diluée au 1/100 avec l'eau distillée immédiatement avant l'emploi.

➤ **Solution de chlorure de baryum**

Afin de préparer cette solution une quantité de chlorure de baryum correspondant à 25 a été dissous dans l'eau distillée puis le volume a été complété à 100ml avec le même solvant.

## **Solutions de tests de fer**

### ➤ **Solution à 20 ppm de fer (Fe)**

Afin de préparer cette solution une quantité de sulfate ferrique et d'ammonium correspondant à 0.863g a été dissous dans l'eau distillée puis un volume de 25ml d'acide sulfurique a été ajouté puis le volume a été complété à 500ml avec l'eau.

### ➤ **Solution à 1 ppm de fer (Fe)**

Afin de préparer cette solution, nous avons dilué la solution à 20 ppm de fer au 1/20 avec de l'eau distillé immédiatement avant l'emploi.

## **Solutions de dosage**

### ➤ **Solution tampon chlorure d'ammonium pH 10.0**

Afin de préparer cette solution une quantité de chlorure d'ammonium correspondant à 5.4g a été dissous dans 20 ml d'eau, puis un volume de 35ml d'ammoniaque a été ajouté, le volume a été complété à 100ml avec de l'eau distillé.

### ➤ **Mélange composé au mordant noir**

Une masse de 1g de mordant noir a été mesuré puis mélangé avec 99g de chlorure de sodium.

### ➤ **Édétate de Sodium 0.1M**

La solution a été faite par dissoudre de 37.5 g d'édétate de sodium dans 500 ml d'eau purifié avec 100 ml d'hydroxyde de sodium 1 M et a été complété à 1000.0 ml avec de l'eau purifié.

## **2. Solution préparé dans partie PIMAG ampoule buvable**

### **Solutions de dosage du principe actif : magnésium par complexométrie**

- Les mêmes solutions préparé dans partie dosage principe actif.

### **Solutions de dosage des conservateurs : PHB de méthyle et de propyl par HPLC**

- **Tampon phosphate PH=6**

6.8 g du phosphate mono potassique a été dissous dans 1000 ml de l'eau purifiée ajusté à PH=6.

- **Préparation de la solution standard**

Ont été pesés 200 mg de PHB de méthyle et 75 mg de PHB de propyle, ont été dissous avec 2 ml de méthanol et complété à 100 ml avec de l'eau purifiée : Solution (1).

2 ml de la solution a été prélevé (1) —————> a été compléter à 100 ml avec d'eau purifiée

- **Préparation de la solution essai**

5 ml de la solution buvable a été prélevé dans 100 ml de l'eau purifiée.

Ont été injecté 5 fois la solution standard et deux fois la solution essai.

## **Annexe 02 : Contrôle physico-chimique du Pidolate de magnésium**

### **1. Matériel**

- Verrerie diverse
- un agitateur à tube (vortex)
- Balance électrique
- PH mètre
- Cuve en verre pour CCM
- Plaques de gel de silice
- Pulvérisateur en verre
- Karl Fischer
- Chromatographe HPLC
- Colonne :
  - dimensions :  $l=0.25\text{m}$ ,  $\varnothing=4.6\text{mm}$
  - phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R ( $5\mu\text{m}$ )

### **2. Réactifs**

- Eau
- Méthanol
- Acides pidolique SCR
- Acide acétique glacial
- Chlorure de méthylène
- Iodure de potassium
- Amidon soluble
- Ammoniaque concentrée
- Impureté B de pidolate SCR
- Nitrate de potassium
- Phosphate monosodique
- Acide phosphorique
- Acide glutamique
- Butanol

- Ninhydrine
- Acide nitrique
- Nitrate d'argent
- Chlorure de sodium
- Chlorure de baryum
- Sulfate dipotassique
- Ethanol à 96 pour cent
- Acétate de plomb
- Bromure mercurique
- Éthanol anhydre
- Acide chlorhydrique
- Solution de chlorure stanneux
- Iodure de potassium
- Acide chloroplatinique
- Zinc activé
- Anhydride arsénieux
- Hydroxyde de sodium
- Acide citrique monohydraté
- Acide thioglycolique
- Ammoniaque
- Sulfate ferrique et d'ammonium
- Acide sulfurique
- Edétate de sodium
- Chlorure d'ammonium
- Mordant noir
- Chlorure de sodium

## **Annexe 03 : Contrôle physico-chimique de PIMAG ampoules buvables 10ml**

### **1. Matériel**

#### **1.1. Matériel physicochimique**

- Balance analytique
- Chromatographe HPLC
- Colonne en acier inoxydable remplie de silice griffé C<sub>18</sub> type spherisorb 10 µm ,longueur 250 mm \* 4.6 mm de diamètre
- PH mètre
- Agitateur magnétique
- Fioles de 100 ml
- Fioles de 250 ml
- Pipettes de 1 ml
- Pipettes de 2 ml
- Pipettes de 5 ml
- Burette de 10 ml
- Erlenmeyer 250 ml
- Eprouvette de 200 ml

#### **1.2. Matériel microbiologique**

- Unité de filtration (rampe + pompe à vide)
- Hotte à flux laminaire type vertical
- Etuves à 20-25 °C, 30-35 °C, à 40-45 °C
- Autoclave à chaleur humide
- Compteur de colonies
- PH mètre
- Balance
- Agitateur magnétique chauffant
- Bec bunsen
- Boîtes de pétri de 55 mm de diamètre

- Membranes filtrantes stériles de 0.45  $\mu\text{m}$  de porosité
- Pipettes stériles graduées
- Pipettes pasteur
- Anse de platine
- Flacons stériles
- Alcool 70 %
- Papier Joseph
- Micropipette

## **2.Réactifs**

- Chlorure d'ammonium
- Chlorure de sodium
- Mordant noir ( 1g de noir ericrome et 99g de chlorure de sodium )
- EDTA Na 0.1 M
- Parahydroxybenzoate de méthyle
- Parahydroxybenzoate de propyle
- Méthanol HPLC
- Méthanol
- Eau distillée
- Phosphate mono potassique
- Ammoniaque



## **Annexe04 : Contrôle microbiologique de PIMAG ampoules buvables 10ml (produit fini)**

### **Préparation des milieux de culture recommandés**

#### **➤ Solution tampon peptonée au chlorure de sodium à PH 7 (STP)**

- Phosphate monopotassique	3,6 g
- Phosphate disodique dihydraté	7,2 g équivalent à 0.067 M de phosphate
- Chlorure de sodium	4,3 g
- Peptone de viande ou de caséine	1,0 g
- Eau purifiée	1000 mL

Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé

#### **➤ Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (TSA)**

- Peptone pancréatique de caséine	17,0 g
- Peptone papaïque de soja	3,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Phosphate dipotassique	2,5 g
- Glucose monohydraté	2,5 g
- Eau purifiée	1000 mL

Ajustez le PH pour qu'il soit de  $7.3 \pm 0.2$  à 25 C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.

#### **➤ Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (TSL)**

- Peptone pancréatique de caséine	15,0 g
- Peptone papaïque de soja	5,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Gélose	15,0 g
- Eau purifiée	1000 mL

Ajustez le PH pour qu'il soit de  $7.3 \pm 0.2$  à 25 C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.

➤ **Milieu Sabouraud Glucose Gélosé (SGG)**

- Dextrose	40,0 g
- Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine	10,0 g
-Gélose	15.0 g
- Eau purifiée	1000 mL

Ajustez le PH qu'il soit de  $5.6 \pm 0.2$  à 25 C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.

➤ **Milieu liquide de MacConkey (MCB)**

- Hydrolysat pancréatique de gélatine	20,0 g
- Lactose monohydraté	10,0 g
- Bile de boeuf déshydratée	5,0 g
- Pourpre de bromocrésol	10 mg
- Eau purifiée	1000 mL

Ajustez le PH pour qu'il soit de  $7.3 \pm 0.2$  à 25 C après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.

➤ **Milieu gélosé de Mac Conkey(MCA)**

- Hydrolysat pancréatique de gélatine	17.0g
- Peptones de viande et de caséine	3.0 g
- Lactose monohydraté	10.0g
- Chlorure de sodium	5.0 g
- Sels biliaires	1,5g
-Gélose	13.5 g
- Rouge neutre	30.0 mg
- Violet Cristallisé	1mg
- Eau purifiée	1000mL

Ajustez le PH pour qu'il soit de  $7.1 \pm 0.2$  à 25 C après stérilisation. Portez à ébullition pendant 1 min en agitant constamment, puis stérilisez à l'autoclave selon un cycle validé.

## **Résumé**

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

L'objectif de cette étude consiste au contrôle physico-chimique et microbiologique du PIMAG ampoule buvable 10 ml produite par l'unité GSK, Boudouaou et ce dans le but d'établir la conformité des substances testées (principe actif et produit fini) avec les normes de la Pharmacopée Européenne.

Différentes analyses de contrôle physico-chimiques ont été réalisées sur le produit fini et leur principe actif : HPLC, CCM, pH..., etc. Les résultats obtenus, permettant de conclure que tous les tests réalisés sont conformes.

Par ailleurs, l'analyse microbiologique a été faite juste sur le produit fini. Les résultats obtenus montrent que le produit fini est conforme aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne.

### **Mots clés**

PIMAG ampoule buvable 10ml, Pidolate de magnésium, Pharmacopée Européenne, contrôle physico-chimiques, contrôle microbiologique

## **Abstract**

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

The objective of this study is the physicochemical and microbiological control of PIMAG oral ampoule 10 ml, produced by the GSK unit, Boudouaou, in order to establish the conformity of all the substances tested (active ingredient and finished product) with the European Pharmacopoeia standard.

The Various physicochemical control analyzes were carried : HPLC, CCM, pH ...

The results obtained, allowing to conclude that all the tests carried out are in conformity.

Moreover, the microbiological analysis was done just on the finished product. The results obtained show that the finished product is conform with the standards prescribed by the European Pharmacopoeia

### **Keywords**

PIMAG oral ampoule 10ml, Magnesium pidolate, European Pharmacopoeia, physicochemical control, microbiological control.