



جامعة محمد الخامس بالرباط
Université Mohammed V de Rabat

ROYAUME DU MAROC

Université

Mohammed V – Rabat

Faculté de Médecine et de Pharmacie

RABAT



Année 2022

N° :MM352022

Mémoire de fin d'études

Pour L'obtention du Diplôme National de
Spécialité en : « **biotechnologie médicale option
biomédicale.** »

Intitulé

**Le contrôle physico chimique et microbiologique des
médicaments.**

Présentée par :

Mlle Lamyaa KERRICH

Le : 25 juillet 2022

Sous la direction du : **Docteur. El mahdi ZHOURI**



ROYAUME DU MAROC

Université

Mohammed V – Rabat

Faculté de Médecine et de Pharmacie



Année 2022

N° : MM352022

MEMOIRE DE MASTER

MASTER DE « **BIOTECHNOLOGIE MEDICALE** »

OPTION : « **Biomédicale** »

Intitulé :

**Le contrôle microbiologique et physico chimique
des médicaments ».**

Soutenue par :

Mlle. Lamyaa KERRICH

Devant le jury composé de :

Pr. Bentaybi Kaoutar, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, **Présidente**

Dr.Zhouri Elmahdi , Responsable du laboratoire de Zénith pharma , **Encadrant**

Dr. Roudani leila, Direction des médicaments et de la pharmacie, **Examinatrice**

REMERCIEMENTS :

A Pr. AZEDDINE Ibrahimi :

Directeur du laboratoire de biotechnologie médicale :

Votre compétence professionnelle incontestable ainsi que vos qualités humaines vous valent l'admiration et le respect de tous. Veuillez croire en l'expression de ma profonde admiration et de mon grand respect.

A Pr. OUADGHIRI Mouna :

Coordonnatrice du master biotechnologie Médicale option biomédicale

Votre compétence professionnelle incontestable vaut une grande admiration et le respect de tous. Veuillez croire en l'expression de ma profonde admiration et ma gratitude.

Au Dr. ELZHOURI Mahdi :

Responsable du laboratoire de contrôle de Zénith Pharma :

Je vous remercie infiniment pour votre permission d'intégrité dans l'équipe du laboratoire de contrôle des médicaments. D'autre part, les moyens que vous avez mis à ma disposition ainsi que les multiples conseils méthodologiques et vos corrections enrichissantes dotées d'une grande importance pour moi durant la réalisation de mon projet de fin d'étude.

Au Pr. BENTAYBI Kaoutar :

Professeur à la faculté de médecine et de pharmacie à Rabat.

Mes remerciements s'adressent à vous qui m'a fait l'honneur de bien vouloir évaluer mon travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma respectueuse admiration.

Au Dr. ROUDANI Leila :

A la direction des médicaments et de la pharmacie,

Je tiens à vous remercier énormément pour votre examination de mon projet de fin d'étude ainsi que votre grande sympathie.

Je remercie infiniment aussi les techniciens du laboratoire de contrôle qui m'ont beaucoup aidé lors de mes manipulations, veuillez trouver ici le témoignage de ma grande reconnaissance envers toutes et tous et plus précisément à Mr. OMAR YASSI ET Mme NAIMA

DEDICACES :

Merci au bon dieu de m'avoir guidée sur le bon chemin et de m'avoir éclairé la voie du savoir.

À mes chers parents kerrich hassan et fatma elbaiki :

Tout le respect et l'amour que j'ai pour vous, je vous dédie ce modeste travail de fin d'étude en témoignage de ma reconnaissance envers votre affection et grand sacrifice et pour tout l'amour dont vous avez toujours fait preuve.

À ma famille :

Je dédie aussi ce travail à mon cher frère **KERRICH Mohamed Amine** que je remercie d'être toujours présent à mes côtés, ses conseils incessants tout au long de mon cursus universitaire m'ont procuré un grand encouragement durant cette période. Ainsi à ma tante **Laila Elbaiki** et ma cousine **Salma Jeddab** pour leur soutien continu malgré notre distance.

À mes anciens professeurs et mes collègues :

Qui me sont chers, je vous remercie pour votre appui constant pendant toute mes années d'études et plus précisément à mon cher professeur de LP BAM **Pr. Aniq Filali** et mes chères collègues **EL Ghoulam Nouriya et Meskin Meryem et Salmane El Mustapha.**

À mes amis d'enfance :

J'adresse aussi mon travail à mes amis en or, qui me manque atrocement, leur constant soutien moral vaut beaucoup pour moi. Je cite parmi eux : **RIM Madhar, ZINEB Fethi, MOKHTAR Elbouraqui.**

Liste des abréviations :

RH : ressources humaines

ZP : zénith pharma

MP : matière première

AC : article de conditionnement

PF : produit fini

AMM : après mise sur le marché

PH : potentiel hydrogène

BPF : bonne pratiques de fabrication

BPL : bonne pratique du laboratoire

DEQM : direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé.

USP: United states pharmacopeia

ORL: oto-rhino-laryngologie

CDP : centrale de pesée.

ICH : international Council for harmonisation

NC : non-conformité

PSM : poste de sécurité microbiologique

CL : chaîne liquide

PH EUR : Pharmacopée européenne

MM : masse moyenne

SST : solution de résolution.

Liste des tableaux :

Tableau I : Fiche signalétique de ZENITH PHARMA.

Tableau II : Tableau récapitulatif des différents fonctionnements des industries pharmaceutiques.

Tableau III : Les formes galéniques les plus courantes.

Tableau IV : les conditions de conservation des Echantillons.

Tableau V : Méthodes de recherche de microorganismes spécifiés.

Listes des figures :

- Figure 1** : l'organigramme de la société ZENITH PHARMA.
- Figure 2** : les différentes étapes résumant le processus de fabrication.
- Figure 5** : dissolutest ERWEKA.
- Figure 3** : Cabine de prélèvement TELSTAR 1600.
- Figure 4** : chromatographie liquide à haute performance.
- Figure 6** : Titrateur KARL fisher.
- Figure 7** : spectrophotomètre UV
- Figure 8** : boites de pétris contenant les filtres pour la recherche des colonies.
- Figure 10** : Les solutions préparées lors de la manipulation
- Figure 9** : Les vials utilisés pour l'HPLC
- Figure 11** : Le pic représentant le standard
- Figure 12** : Le pic représentant l'essai
- Figure 13** : le pic représentant le blanc
- Figure 14** : le pic représentant le SST
- Figure 15** : le pic représentant le standard de l'impureté
-

Résumé :

Titre : le contrôle physicochimique et microbiologique des médicaments.

Auteur : KERRICH Lamyaa

Mots clés : BPF. L'AMM, gélules, sirop, HPLC.

Objectif : la libération d'un lot de validation en bonne qualité constitue un objectif essentiel pour chaque système national de santé afin d'éviter le rappel de lot dû à une déviation , **introduction :** la mise en œuvre d'un système réglementaire national des médicaments et l'application des instructions liées aux BPF constitue une étape importante pour protéger la santé publique et permettre à un médicament en bonne qualité d'arriver au marché et être commercialisé dans un pays ou autres pays, en s'assurant de sa qualité, de son efficacité et de sa sécurité via le contrôle des échantillons en contrôlant un dossier de lot complet et vérifié par le pharmacien responsable.

Matériels et méthodes : Le contrôle médicamenteux est une activité essentielle complémentaire de l'évaluation et de l'inspection. Il apporte une expertise scientifique indépendante de la qualité des produits de santé et leur sécurité d'emploi. En respectant la pharmacopée européenne. Les analyses les plus connues : la désagrégation la dissolution, l'HPLC pour le dosage du principe actif fénofibrate.

Les résultats obtenus confirment que le produit est conforme et doté d'une bonne qualité pharmaceutique. **Discussion :** Les analyses physicochimiques et microbiologiques effectuées en sein de la société Zénith Pharma au laboratoire de contrôle, nous ont permis d'assurer la conformité du produit fabriqué dénué d'impuretés ce qui nous garantit une bonne efficacité du principe actif lors de traitements.

Abstract:

Title: physico-chemical and microbiological control of medicinal products.

Author: KERRICH Lamyaa

Keywords: GMP, MA, capsules, syrup, HPLC.

Objective: The release of a good quality validation batch is an essential objective for each national health system to avoid batch recall due to deviation, **introduction:** the implementation of a national drug regulatory system and the application of GMP instructions is an important step to protect public health and allow a good quality drug to reach the market and be marketed in a country or other countries, ensuring its quality, efficacy and safety through sample control by controlling a complete batch record and verified by the responsible pharmacist.

material and method: Medication control is an essential activity complementary to evaluation and inspection. It provides independent scientific expertise on the quality of health products and their safety of use. In compliance with the European Pharmacopoeia. The most known analyses: disaggregation, dissolution, HPLC for the dosage of the active ingredient fenofibrate.

The results obtained confirm that the product is in conformity and has a good pharmaceutical quality. The physicochemical and microbiological analyses carried out within Zenith Pharma in the control laboratory **discussion** allowed us to ensure the conformity of the manufactured product devoid of impurities, which guarantees a good effectiveness of the active principle during treatments.

ملخص

العنوان : التحكم الفيزيائي - الكيميائي والميكروبيولوجي في المنتجات الطبية
المؤلف : لمياء قريش

الهدف : يعد إطلاق دفعة التحقق بجودة جيدة هدفاً أساسياً لكل نظام صحي وطني من أجل تجنب سحب دفعة

مقدمة : وتنفيذ نظام وطني لتنظيم العقاقير وتطبيق المبادئ التوجيهية لبرنامج الرصد العالمي خطوة هامة في حماية الصحة العامة وتمكين دواء جيد النوعية من الوصول إلى السوق وتسويقه في بلد أو بلدان أخرى، ضمان جودتها وفعاليتها وسلامتها من خلال مراقبة العينات عن طريق فحص ملف الدفعة الكاملة وفحصه من قبل الصيدلي المسؤول

المواد والأساليب: رصد العقاقير نشاط أساسي يكمل التقييم والتفتيش. وهي توفر خبرة علمية مستقلة في نوعية المنتجات لتحديد مبدأ HPLC الصحية وسلامتها. من خلال احترام الأدوية الأوروبية. التحليلات الأكثر شهرة: الانحلال،
النشط fenofibrate

تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها أن المنتج متوافق وله جودة صيدلانية جيدة

في مختبر التحكم، Zenith Pharma التحليلات الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية التي أجريت داخل شركة المناقشة: سمحت لنا بضمان مطابقة المنتج المصنع بدون شوائب مما يضمن لنا فعالية جيدة للمكون النشط أثناء العلاج.

SOMMAIRE :

1	Introduction :	1
1.1	Présentation et activités :	2
1.1.1	Présentation de l'entreprise	2
1.1.2	Activités :.....	2
2	Partie bibliographique	7
2.1	L'industrie pharmaceutique :.....	7
2.2	La pharmacie d'officine :.....	7
2.3	Établissements pharmaceutiques industriels :.....	8
2.4	Établissements pharmaceutiques grossistes :	8
3	Les textes réglementaires sont classés en 3 niveaux :	9
3.1	Dans le cadre international :.....	9
3.2	Le cadre national :.....	Error! Bookmark not defined.
3.3	le référentiel des BPF :	10
4	Le médicament :	12
4.1	formes galéniques.....	13
4.2	Impuretés :.....	14
5	Contrôle qualité	17
5.1	Le contrôle au laboratoire :	18
5.2	. Zone de prélèvement de la matière première :	18
5.3	Échantillonnage :	20
5.4	Circuit d'un échantillon au laboratoire de contrôle.....	21
6	partie expérimentale : Laboratoire des Analyses	
	Microbiologiques	23

6.1 Préparation et contrôle des milieux et des diluants en microbiologie
23

6.2 Contrôle physicochimique de produit fini (PF) :..... 30

6.2.1 Spécifications du febrate :..... 30

6.2.2 Monographie de contrôle : 30

6.2.3 Résultats et interprétations : 37

6.2.4 Conclusion :..... 43

Liste des références :

Introduction :

1 Introduction :

Le développement des événements sociaux, politiques et de la santé met en évidence l'importance de l'industrie pharmaceutique et la production des médicaments depuis longtemps, ce domaine qui a connu un changement énorme dans les années précédentes.

Or l'influence de cette industrie sur la vie humaine nécessite l'application d'un ensemble des conditions particulières chimiques, techniques et une vérification des étapes et des éléments liés à la qualité telle que les procédés, les systèmes informatiques, les méthodes analytiques, Les essais au niveau des laboratoires, la sécurité de produit, l'efficacité, le dosage, la solidité, la liquidité ..., afin de valider un procédé et de libérer les produits pharmaceutiques efficaces pour avoir l'autorisation de mise sur le marché.

La validation assure avec un degré élevé qu'un procédé, une procédure ou une activité conduit à un produit final bien conforme à ses spécifications prédéterminées et à l'exigence de l'AMM d'une façon répétable et reproductible.

Plus précisément, la validation du procédé de fabrication est la preuve technique et écrite qu'un procédé est capable d'assurer la production d'un médicament d'une qualité bien déterminée et que le fonctionnement correct du procédé doit être effectué en utilisant des principes scientifiques, au but de confirmer l'acceptabilité du médicament. Donc le défi actuel est d'innover chaque jour les techniques et les méthodes pour raison d'augmenter le rendement de la validation sans toucher la sécurité des patients.

La problématique qui a été posé c'est comment peut-on vérifier la conformité d'un produit fabriqué avant l'octroi de son AMM par le ministère de la santé.

L'objectif de mon étude c'est de participer à l'analyse physicochimique d'un produit fini et aux contrôles microbiologiques du sirop afin de s'assurer de leur conformité aux normes exigées par la pharmacopée européenne 10e Edition.

1.1 Présentation et activités :

1.1.1 Présentation de l'entreprise

- La société ZENITH PHARMA est une société de capital et de droit marocain qui a été autorisée en tant qu'établissement pharmaceutique industriel par décision du secrétariat général du gouvernement sous le N° 11993 SGG/AG/2 du 24 décembre 2004.

- Le site industriel ZP est situé dans la zone industrielle Tassila à AGADIR, il est d'une superficie de 20 .000 m² dont plus de 12 .000 m² bâtis et un terrain de 5.000 m² sous-forme de réserve foncière pour un éventuel besoin d'extension .

- L'usine comprend les locaux de production sur un étage, un laboratoire de contrôle, un magasin des matières premières et articles de conditionnement d'une capacité de 1.000 palettes, un centre de distribution abritant une zone de stockage du produit fini, une grande hauteur(14m) d'une capacité de 8064 palettes et des locaux annexes, des locaux techniques à utilités pharmaceutiques, une galerie technique et un bâtiment administratif.

- Depuis sa création, elle a enregistré une nette performance et des résultats positifs avec un chiffre d'affaires réalisé en 2019 d'environ 577 millions de DHS.

- ZENITH PHARMA compte dans son effectif environ 329 collaborateurs dont environ 114 personnes exerçant un acte pharmaceutique direct.



1.1.2 Activités :

ZENITH Pharma fabrique des produits pharmaceutiques sous licence de plusieurs laboratoires et importe d'autres sous la forme fini ou semi conditionnés.

Ce laboratoire s'adonne à quatre domaines d'activité différentes :

- La pharmacie
- La parapharmacie
- La cosmétique

- La diététique

A ce jour, elle a mis sur le marché plus de 200 produits entre les produits importés et les produits fabriqués.

Organigramme :

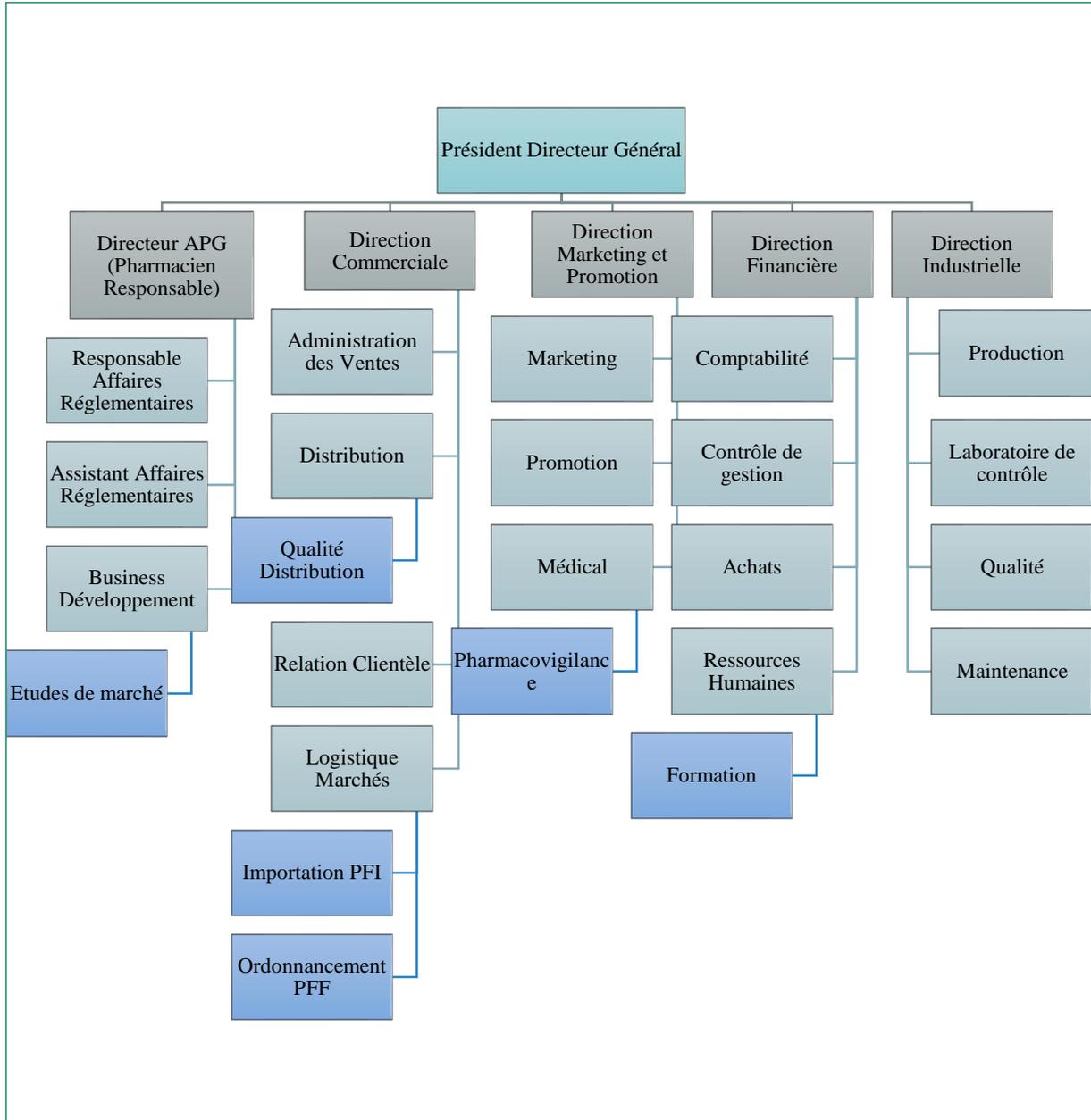


Figure 1 : l'organigramme de la société ZENITH PHARMA.

Fiche signalétique :

1- Fiche signalétique de ZENITH PHARMA

Tableau I : Fiche signalétique de ZENITH PHARMA

Siège social	Usine 96, Zone Industrielle Tassila, Inezgane, Agadir
Direction générale et Marketing	Les Alizés, la colline 2 n° 33, sidi maârouf 20270 CASABLANCA
Forme juridique	Société Anonyme S.A
Capital	12 000 000,00 DHS
Dénomination sociale	ZENITH Pharma
Activité	Fabrication et importation des produits pharmaceutiques
Identification fiscale	6949982
Patente	49706788
Tél	05 28 83 83 74
Fax	05 28 83 79 25
Site web	www.zenithpharma.ma

Les services :

Service achats :

La fonction achat est l'intermédiaire en amont entre les services internes et les fournisseurs afin de répondre aux attentes spécifiques de chaque département de l'entreprise, l'acheteur doit connaître les caractéristiques des fournisseurs ainsi que des produits et services demandés. Le processus achat est détaillé comme suit :

- Les marketings achats :
- Formalisation de besoin :
- Négociation et contractualisation :

Services ressources humaines :

Le responsable RH s'occupe de l'administration et du développement des ressources humaines. Ceci permet d'améliorer la communication transversale au sein de l'entreprise tout en respectant son organigramme. Ainsi, le responsable RH gère le recrutement, la gestion des carrières, la formation, la paie, la rémunération, l'évaluation des performances, les conflits, les relations sociales et syndicats, la motivation, l'implication, la communication, les conditions de travail...

Service magasin réception et stockage des matières premières

Il existe deux types de réceptions :

Les réceptions extérieures : sont les matières premières, les articles de conditionnements, les produits semi-finis ou semi-conditionnés, les produits finis importées chez les tiers

Les réceptions intérieures : sont le retour des matières premières non épuisées et les produits finis fabriqués et ou conditionnés au sein de l'usine. Les cas particuliers concernant les produits inflammables.

Service production :

La fonction production est l'opération de transformation de matières premières ou de composants en produits qui ont une valeur sur le marché, conformément au processus de fabrication. Le processus global de production consiste donc en un flux continu dans lequel des matières premières sont transformées progressivement en produits finis.

Service laboratoire de contrôle de qualité :

Lors de la production , plusieurs contrôles sont effectués permettant ainsi de certifier que le processus industriel s'est déroulé correctement et qu'il n'y a aucune déviation de la qualité par rapport aux normes préétablit .ces contrôles sont déterminés de manière à assurer un suivi régulier de l'opération de fabrication ou de conditionnement en cours, ces contrôles permettent de vérifier par exemple la masse moyenne, la fiabilité, le délitement , la dureté, l'humidité relative ,l'épaisseur et le volume apparent ,la dissolution .

Tous ces contrôles se font selon la pharmacopée européenne qui est une référence essentielle dans l'évaluation des données relatives à la qualité des médicaments. Les normes de la pharmacopée européenne s'appliquent à tous les médicaments quels que soient leur origine (chimique, biologique, ou à base de plantes) leur mode de production (médicaments issus des biotechnologies ou de manipulation génétique) ou leur type (médicaments homéopathiques, originaux, génériques, vaccins).

Ce laboratoire de contrôle est conçu et équipé pour pouvoir réaliser deux types d'analyse : les analyses chimiques et physiques et les analyses microbiologiques.

Les analyses chimiques et physiques et les analyses microbiologiques des MP et PF : concernant les analyses d'identification du principe actif par infrarouge, les essais pour la détermination du PH (Potentiel hydrogène) ou excipients et les analyses permettant de vérifier l'aspect des impuretés, le principe actif ...

La revue bibliographique :

2 Partie bibliographique

2.1 L'industrie pharmaceutique :

Elément important des systèmes de santé qui comprend de nombreux services et entreprises, publics ou privés, qui découvrent, fabriquent et commercialisent des médicaments au service de la santé humaine et animale. [3]

Elle repose principalement sur la recherche-développement (R-D) de médicaments destinés à prévenir ou à traiter des affections ou des troubles divers.

Tableau II : Tableau récapitulatif des différents fonctionnements des industries.

Création des établissements	Fonctionnement des établissements	Organisation des établissements	Inspection des établissements
<p>Nécessitent :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Une autorisation d'approbation préalable -Une autorisation définitive d'ouverture <p>Délivrés par :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Le Secrétariat Général du Gouvernement (SGG) -Ministre de la santé et du conseil national de l'ordre des pharmaciens 	<p>Les opérations effectuées dans le cadre de fabrication industrielle des spécialités pharmaceutiques :</p> <ul style="list-style-type: none"> - L'achat et le contrôle des matières premières et des articles de conditionnement. - Le développement galénique. - La production. - Le contrôle de la qualité. - Le magasinage. - La vente et la distribution. - L'importation et le contrôle des produits pharmaceutiques importés. - La libération des lots. 	<p>Trois domaines essentiels :</p> <p>Recherche & Développement</p> <p>Découverte/Essais cliniques/Lancement</p> <p>Production & Logistique</p> <p>Qualité/</p> <p>Distribution</p> <p>Vente & Marketing</p> <p>Commercialisation/</p> <p>Management</p>	<p>La Direction des Médicaments et de la Pharmacie :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Veiller au respect et à l'application de la législation et de la réglementation régissant les médicaments. -Assure la recherche des infractions en relation avec les médicaments et les produits de santé

2.2 La pharmacie d'officine :

- D'après **la loi 17-04**, portant code du médicament et de la pharmacie : L'officine de pharmacie est l'établissement de santé affecté, à titre exclusif, à la préparation des médicaments et à la détention en vue de leur dispensation au public : des médicaments, des objets de pansements, des produits et articles à usage médical (présenté sous une forme stérile), les laits ainsi que les aliments lactés diététiques pour nourrissons.

La pharmacie d'officine constitue le dernier maillon de la chaîne de distribution du médicament. Le nombre des officines privées a connu une évolution considérable depuis l'indépendance. Il est passé de 375 en 1975 à plus de 11200 en 2022.[3]

La très forte accélération observée à partir de 2000 s'explique par l'application partielle des exigences du décret d'équivalence pour les diplômes étrangers.

-Autorisation de Mise sur le Marché [4]

D'après la loi 17-04, portant code du médicament et de la pharmacie : « Tout médicament fabriqué industriellement, importé ou exporté, même sous forme d'échantillons, doit faire l'objet avant sa commercialisation ou sa distribution à titre gratuit ou onéreux, en gros ou au détail, d'une autorisation délivrée par le ministère de la santé publique.

La durée de validité de l'AMM est de 5 ans.

2.3 Établissements pharmaceutiques industriels :

D'après la loi 17-04, portant code du médicament et de la pharmacie :

« L'établissement pharmaceutique industriel est tout établissement disposant d'un site de fabrication et effectuant les opérations de fabrication, d'importation, d'exportation et de vente en gros des médicaments et, le cas échéant, la distribution en gros »

L'industrie pharmaceutique joue un rôle socio-économique important. Elle est à l'origine de plus de 40000 emplois directs et indirects. [1]

Actuellement, l'industrie pharmaceutique marocaine occupe une place importante au niveau du continent Africain en matière de taille et de chiffre d'affaires Cette industrie a connu une grande évolution en matière de nature des opérations de fabrication : allant du simple conditionnement vers des opérations complexes de fabrication. Actuellement en 2022, il y a 54 établissements pharmaceutiques.[3]

2.4 Établissements pharmaceutiques grossistes :

D'après la loi 17-04, portant code du médicament et de la pharmacie :

« L'établissement pharmaceutique grossiste répartiteur est tout établissement exerçant les activités liées à l'achat, à la détention et à la distribution en gros des médicaments aux officines de pharmacie et aux réserves de médicaments dans les cliniques.»

Le nombre d'établissements grossistes répartiteurs est passé de 4 en 1977 à 62 en 2022. Ils sont localisés dans plusieurs villes différentes. La croissance du nombre de ces établissements et leur implantation sont directement liées à la multiplication et à la localisation géographique des pharmacies d'officine.[3]

3 Les textes réglementaires sont classés en 3 niveaux :

3.1 Dans le cadre international :

Le laboratoire de contrôle de qualité a pour but de contrôler la qualité des produits fabriqués suivant les recommandations des bonnes pratiques de fabrication (BPF), des bonnes pratiques de laboratoires (BPL) et des procédures organisationnelles afin d'assurer la conformité (aux normes européennes) de la qualité des matières premières, des articles de conditionnement réceptionnés et des produits fabriqués.[1]

Au laboratoire du Zénith Pharma, le contrôle de la qualité est effectué selon les techniques établies par le commettant, mais également selon les normes de la pharmacopée européenne. The United State Pharmacopeia (USP), and the British Pharmacopeia (BP).

1-La pharmacopée européenne : La pharmacopée européenne est un recueil de standards concernant le contrôle de la qualité des formes pharmaceutiques et des produits entrant dans leur composition. Elle concerne la composition qualitative et quantitative et les tests à réaliser sur les différentes formes pharmaceutiques, les matières premières utilisées dans la production de médicaments ainsi que les intermédiaires de synthèse. Les textes concernant les formes pharmaceutiques dans lequel les matières premières sont appelées « **monographies** » et imposent un standard de qualité qui doit être respecté par les états signataires de la convention relative à l'élaboration de la pharmacopée européenne [1].

La direction européenne de la qualité du médicament & des Soins de Santé (DEQM) sert de support à l'élaboration de la pharmacopée européenne mais l'instance qui dirige la pharmacopée européenne est la Commission européenne de la Pharmacopée. Elle décide du programme de travail, constitue les groupes d'expert, adopte les monographies

Actuellement la 10ème version de la pharmacopée européenne est en vigueur, depuis janvier 2020, La pharmacopée est organisée en **2 volumes complétés** par 8 suppléments. Elle contient 3000 monographies, et plus 2500 descriptions de réactifs.

Dans les entreprises pharmaceutiques la Pharmacopée Européenne est notamment utilisée dans les services de contrôle qualité. En effet, elle sert de base pour la mise en place des contrôles sur les matières utilisées dans l'entreprise pour la fabrication des produits pharmaceutiques et référencés dans la pharmacopée ou pour la mise en place des contrôles sur les produits finis, c'est-à-dire le produit pharmaceutique destiné à la vente. [3]

Les monographies et autres textes de pharmacopée européenne sont rédigés de façon à répondre aux besoins :

- **Des autorités règlementaires,**
- **Des services chargés du contrôle qualité des médicaments et de leurs constituants.**
- **Des fabricants de médicaments et de leurs différents composants.**

2-I'ICH : est le Conseil International d'harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement des médicaments à usage humain est une structure internationale, non lucratif qui rassemble les autorités de réglementation et les représentants de l'industrie pharmaceutique. [1]

D'Europe, du Japon et des Etats-Unis, pour discuter des aspects scientifiques et techniques de l'enregistrement des médicaments, et de parvenir à une grande harmonisation dans l'interprétation et l'application des Lignes directrices, et des exigences en assurant la qualité, efficacité et sécurité des produits de santé, réduisant ou évitant ainsi la duplication des tests effectués lors de la recherche et du développement de nouveaux médicaments humains. [2]

4 Les lignes directrices/consignes

-Consignes de qualité :

-la réalisation d'harmonisation dans le domaine de la qualité comprenddes étapes telles que la conduite d'études de stabilité, la définition de seuils pertinents pour les tests et une approche plus flexible de la qualité pharmaceutique basée sur la gestion des risques des bonnes pratiques de fabrication (BPF).[2]

-Consignes de sécurité :

L'ICH a produit un ensemble complet de directives de sécurité pour découvrir les risques potentiels tels que la cancérogénicité, la génotoxicité et la repro toxicité.

-Consignes/directives d'efficacité :

Ils sont là pour la couverture de nouveaux types de médicaments dérivésde procédés biotechnologiques.

4.1 Dans le cadre national :

dahirs, décrets, loi, arrêtés et circulaires (circulaires N° 49 DMP/00 du 16 juillet relative à la procédure de la demande d'obtention de l'autorisation de débit d'une spécialité pharmaceutique.[1]

Au niveau national :

La réglementation est un ensemble des règles applicables à un sujet ou à un domaine particulier et au sens large, un ensemble d'indication de lois de prescription qui régissent une activité sociale.[3]

Classification de la réglementation :

- **Dahir** : c'est le décret pris par le roi
- **Loi** : acte émanant du parlement.
- **Décret** : émanant du premier ministre.
- **Arrêté** : acte émanant des différents ministres.
- **Circulaire** : texte qui permet aux autorités administratives (ministre) d'informer leurs services.

Le laboratoire de contrôle de qualité a pour but de contrôler la qualité des produits fabriqués suivant les recommandations des bonnes pratiques de fabrication (BPF), des bonnes pratiques de laboratoires (BPL) et des procédures organisationnelles afin d'assurer la

conformité (aux normes européennes) de la qualité des matières premières, des articles de conditionnement réceptionnés et des produits fabriqués.

Au laboratoire du Zénith Pharma, le contrôle de la qualité est effectué selon les techniques établies par le commettant, mais également selon les normes de la pharmacopée européenne. The United State Pharmacopeia (USP), and the British Pharmacopeia (BP).[2]

3-La loi 17-04 : dahir n°1.06.151, fait à Marrakech, le 30 chaoul 1427, elle comporte 159 articles, elle concerne surtout les pharmaciens du secteur privé c'est une loi qui englobe toutes les règles concernant les médicaments et la pharmacie ; par ailleurs elle doit être respectée par toute personne exerçant le domaine pharmaceutique.[4]

3.3 le referenciel des BPF :

Le texte réglementaire, opposable lors des inspections au Maroc est les Bonnes Pratiques de Fabrication. La version actuellement en vigueur est la version 2019. Les BPF sont donc une exigence réglementaire c'est un élément important dans la stratégie industrielle puisqu'elles permettent de diminuer les coûts liés à la non-qualité. [4]

Les BPF sont un élément-clef de l'assurance qualité car elles permettent de garantir que les médicaments sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente selon les normes de qualité adaptées à leur emploi.

Les BPF donnent des objectifs à atteindre en termes de qualité mais elles ne donnent pas les moyens de les atteindre. Ces moyens sont laissés à l'appréciation des industriels. On a donc une homogénéité imposée du niveau de qualité à atteindre mais une hétérogénéité des moyens mis en place pour atteindre ce niveau.

Les BPF sont composées de 3 parties :

- Les bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain,
- Les bonnes pratiques de fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments,
- Documents relatifs aux bonnes pratiques de fabrication.

La première partie concernant la fabrication des médicaments a usage humain est composée de 9 chapitres :

Chapitre 1: gestion de la qualité

Chapitre 11 : personnel

Chapitre 111 : local et matériel

Chapitre 1V : documentation

Chapitre V : production

Chapitre V1 : contrôle de la qualité

Chapitre V11 : fabrication et analyse en sous traitance

Chapitre V111 : réclamation et rappel de médicaments

Chapitre 1X : auto-inspection

Les dix Grands principes des BPF :

- Écrire les modes opératoires et les instructions afin de fournir une "feuille de route" nécessaire à la conformité aux BPF et à une production de qualité régulière.
- Suivre scrupuleusement les procédures et instructions pour prévenir toute contamination, inversion ou erreur.
- Renseigner rapidement et précisément le travail en cours dans un but de conformité aux procédures et de traçabilité.
- Prouver que nos systèmes font ce pour quoi ils sont conçus en effectuant des démarches formelles de validation.
- Intégrer la productivité, la qualité du produit et la sécurité du personnel dans la conception des bâtiments et des équipements.
- Effectuer la maintenance des bâtiments et équipements de manière régulière et efficace.
- Développer et démontrer clairement les compétences au poste de travail.
- Protéger les produits contre toute contamination en adoptant des habitudes régulières et systématiques de propreté et d'hygiène.
- Construire la qualité dans les produits par un contrôle des matières premières et des processus tels que la fabrication, l'emballage, l'étiquetage...
- Planifier et effectuer régulièrement des audits afin d'assurer conformité au BPF et efficacité du système qualité.

5 Le médicament :

Composition et différentes formes galéniques

Composition du médicament :

- Le médicament est composé de :
 - principe actif (PA)
 - Excipients
 - Articles de conditionnement

Tout au long de la mise au point d'un médicament, ses composantes dépendent de la voie d'administration de la forme galénique, du procédé de fabrication des méthodes de contrôle des conditions de conservation :

5.1 Formes galéniques :

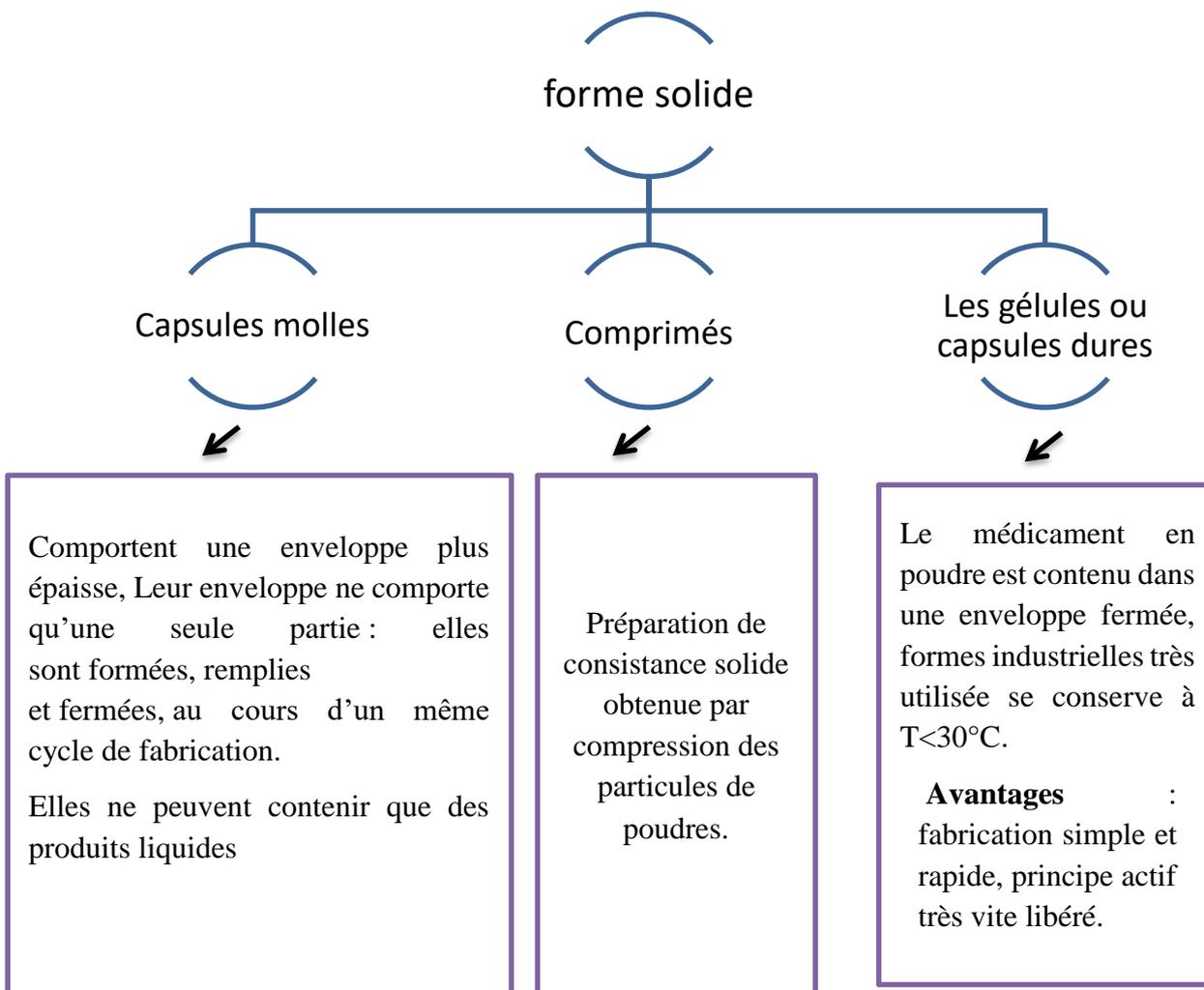
Tableau III : Les formes galéniques les plus courantes.

Voies	Formes principales
Orales	Comprimés, gélules ou suspensions aqueuses
Parentérales	Solution aqueuses
Rectale	Suppositoires
Vaginale	Comprimés, solutions aqueuses, ovules
Ophthalmique	Solutions aqueuses
ORL	Solution aqueuses pulvérisés ou non

Le choix de la forme pharmaceutique dépend de [5] :

- L'action recherchée (locale/ systémique).
- De la rapidité d'action (immédiate ou pas).
- De la durée d'action (courte/longue).
- De la nature du PA (soluble/compressible/sensible aux UV...).
- Du patient (enfant / adulte/ inconsciente /physiopathologie).
- De la stratégie thérapeutique.

Il existe plusieurs formes pharmaceutiques :[2]



5.2 Impureté :

Tout composant autre que la substance médicamenteuse. [2]

Il existe de nombreux types d'impuretés. Celles-ci peuvent être classées en 3 grandes catégories :

- **Impuretés organiques.**
- **Impuretés inorganiques.**
- **Solvants résiduels.**

Les impuretés organiques :

elles peuvent apparaître durant la fabrication et (ou) l'entreposage de la nouvelle substance médicamenteuse (PA). Elles peuvent être connues (identifiés) ou non, volatiles ou non et elles comprennent :

- les produits de base ;
- Les sous-produits ;
- Les intermédiaires ;
- Les produits de dégradation ;

Les impuretés inorganiques :

Ils peuvent provenir du procédé de fabrication. Généralement, elles sont connues et identifiées et comprennent :

- les réactifs, les ligands et les catalyseurs qui accélèrent la réaction enzymatique.
- Les métaux lourds et autres métaux résiduels.
- Les sels inorganiques.

Les solvants résiduels :

Ce sont des liquides organiques ou inorganiques utilisés comme véhicules dans la préparation de solutions ou de suspensions utilisées dans la synthèse d'une nouvelle substance pharmaceutique ; ils servent aussi à la recristallisation du produit.

- **Substances apparentées**

Ce sont des substances qui apparaissent pendant la synthèse du PA. Elles peuvent comprendre les produits de départ et leurs impuretés, des produits de réaction secondaires, d'isomérisation.

Substances apparentées : titre donné généralement pour les impuretés organiques.

- **Produits de dégradation :**

Ce sont des substances qui apparaissent après la synthèse du PA.

Ils se produisent au cours de la fabrication ou durant l'entreposage (ou stockage) du produit fini par suite de l'action, de la lumière, de la température, du pH, de l'humidité ou d'une réaction avec un excipient et/ou le système récipient-fermeture.

Pour fabriquer un médicament, les BPF exigent [1] :

- Qualification et étalonnage des équipements.
- Qualification du système de traitement d'air et de traitement d'eau.
- Validation des procédés de nettoyage.
- Disponibilités du personnel qualifié pour un tel processus.
- Maintenance du matériel à utiliser.
- Disponibilité des MP conformes et en quantité suffisante.
- Disponibilités de l'habillement approprié.

- Disponibilité des documents nécessaires pour la traçabilité et le déroulement.
- Du processus de fabrication :

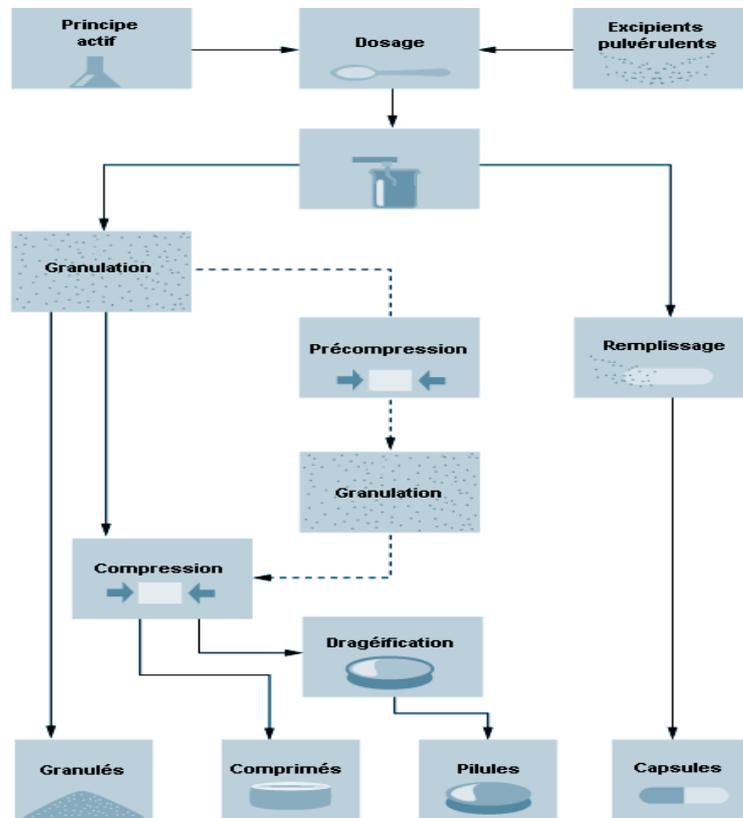


Figure 2 : les différentes étapes résumant le processus de fabrication.

a. Les étapes de fabrication des comprimés au niveau industriel :

La fabrication débute par : [1]

1. La préparation et la pesée des principes actifs et des excipients (inertes) dans un local isolé équipé d'un système de ventilation par aspiration localisée. (CDP).
2. Transformation des ingrédients dans un atelier équipé de mélangeurs mécaniques.
3. Les excipients sont chargés à sec dans une trémie placée au-dessus du mélangeur
4. La dissolution des principes actifs au préalable dans un alcool, puis chargés manuellement ou au moyen d'une goulotte latérale. Le mélangeage initial des ingrédients s'effectue à l'état humide.
5. les granules obtenus sont transférés dans un broyeur humide dans lequel les particules du mélange sont ramenées à un petit calibre.
6. Les granules broyés sont alors séchés dans **un séchoir à lit fluidisé** ou sur des plateaux placés dans des étuves spéciales.

7. les granules sont transférés dans une salle de compression où ils sont agglomérés en comprimés par une presse.
8. Les comprimés sortent de la machine par un tube latéral et tombent dans des fûts à revêtement intérieur en plastique.
- 9- Les comprimés vont subir le pelliculage suite au séchage qui se fait simultanément à l'aide d'une turbine, les comprimés seront enrobée d'une couche mince qui a pour but de protéger le noyau du principe.
10. Après analyse par le personnel chargé du contrôle de la qualité, les fûts sont scellés, stockés et préparés en vue des opérations de conditionnement.
11. Les comprimés sont mis sous bande (blister) ou dans des flacons. Ces opérations s'effectuent dans l'aire de conditionnement. Ils sont alors soit immédiatement blistérés, c'est-à-dire scellés entre deux feuilles d'aluminium et de plastique, soit mis en flacon. (Le cas du sirop).
12. Les blisters ou les flacons sont placés sur un tapis roulant où ils sont inspectés avant d'être placés dans des cartons ou des emballages souples avec les notices appropriées, et à la fin ils seront stockés au magasin jusqu'à obtention d'AMM pour la distribution aux pharmacies d'officine et hôpitaux.

6 Contrôle qualité

Pour contrôler un médicament, les BPF exigent :[2]

- L'échantillonnage
- L'établissement des spécifications
- L'analyse
- La validation et la mise en œuvre des procédures de contrôle qualité
- La tenue de l'échantillothèque :
- Le contrôle de stabilité des produits fabriqués
- La participation au traitement des NC des réclamations et des retours.
- Contrôle des MP et articles de conditionnement à la réception
- Contrôle durant le déroulement des phases de fabrication
- Contrôle à la fin de chaque phase de fabrication
- Contrôle produit fini
- Maitrise des procédés (validation des procédés)

6.1 Le contrôle au laboratoire :

- Les méthodes d'analyse doivent être validées. Tous les contrôles décrits dans l'autorisation de mise sur le marché doivent être effectués conformément aux méthodes approuvées.
- Les résultats doivent être enregistrés et vérifiés en vue de s'assurer de leur cohérence tout calcul doit être soigneusement vérifié
- Les contrôles effectués doivent être enregistrés et les enregistrements doivent comprendre au moins les données suivantes
 - Le nom du produit et son dosage
 - Le numéro de lot, le nom du fabricant et du fournisseur
 - Les références aux spécifications correspondantes et aux procédures de contrôle.
 - Les résultats des analyses y compris les observations et les calculs ainsi que les références à tout certificat d'analyse.
 - Les dates des contrôles.
 - Les initiales des opérateurs.
 - Les initiales des personnes qui ont vérifié les analyses et les calculs.
 - Une décision claire d'acceptation ou de refus.

Conditionnements :

C'est un ensemble des articles entourant la forme pharmaceutique depuis sa fabrication jusqu'à son utilisation et opération complémentaire de mise en forme.

Il existe 2 types de conditionnement associé l'un à l'autre :

CONDITIONNEMENT PRIMAIRE :

Élément en contact direct avec la forme pharmaceutique. Exemples : Blisters, ampoules, flacons, PVC.

CONDITIONNEMENT SECONDAIRE :

Élément contenant le conditionnement primaire. Sans contact direct avec la forme pharmaceutique. Le plus souvent constitué d'une boîte cartonnée, l'étui renferme la notice et peut contenir des accessoires.

6.2 . Zone de prélèvement de la matière première :

1.1 Description de la zone de prélèvement :

Les cabines de prélèvement sont conçues de manière à assurer des conditions optimales de manipulation pendant le prélèvement des matières premières et des articles de conditionnement primaires, en soufflant verticalement un flux unidirectionnel d'air ultra-propre (flux laminaire).

Les cabines de prélèvement sont conçues de manière à assurer des conditions optimales de manipulation pendant le prélèvement des matières premières et des articles de conditionnement primaires, en soufflant verticalement un flux unidirectionnel d'air ultra-propre

(flux laminaire). Dans cet air le produit manipulé est protégé de la contamination ambiante aéroportée d'origine microbienne, ou des particules car l'air de travail est balayé de façon continue avec un flux vertical d'air qui descend et qui à l'avance a été filtré. Les cabines utilisées pour le prélèvement dans les laboratoires Zénith Pharma sont de 2 marques :

TELSTAR1600 qui contient le filtre absolu de soufflage et le filtre absolue de rejet **H14** plus



Figure 3 : Cabine de prélèvement TELSTAR 1600

les préfiltres et **IGUNA PR1876**.

Zone de prélèvement : espace conçu pour le prélèvement des matières premières et les articles de conditionnements primaires destinées à l'analyse afin d'éviter leur contamination.

Ces deux zones doivent répondre aux conditions suivantes :

- SAS personnel pour changer l'habillement avant d'accéder à la zone et inversement
- SAS matière pour entrée et sortie des matières, ce SAS doit être à double portes et équiper d'un système pour éviter l'ouverture des deux portes en même temps (jeu de lumière alarme...).

1.2 principe de fonctionnement :

L'air est impulsé grâce à un ventilateur centrifuge. L'air après être passé par le filtre absolu H14, est soufflé dans la zone à protéger à travers une tôle perforée pour la distribution et le soufflage de l'air par flux laminaire, en assurant la stérilité de la zone. Il est respiré par le ventilateur à travers des préfiltres et des filtres à poche et il est réexpédié vers la partie supérieure. Une partie de l'air poussé est expulsée à travers un deuxième filtre absolu laissant

ainsi la zone protégée en dépression par rapport à l'extérieur, afin de ne pas disperser les poudres.

1-3) définition de la notion du prélèvement :

on entend par prélèvement, l'opération consistant à prélever à des fins d'analyse ou de conservation, au sein d'un lot de matières premières, article de conditionnement, produits en cours de production ou produit fini, un échantillon représentatif de ce lot.

1-4) règles générales de prélèvement de la matière première :

Chaque livraison des matières premières doit donner lieu à une réception et a un prélèvement pour analyse, le prélèvement est effectué sur chaque lot.

Un lot zénith pharma correspond à un lot du fournisseur, si le même lot du fournisseur est reçu plusieurs fois, un prélèvement sera effectué lors de chaque livraison avec une attribution de numéros de lots zénith pharma qui est différente.

Le bon de réception doit indiquer le nombre d'emballages reçus et la quantité totale,

La quantité totale à prélever figure dans un Etat établit par le contrôle de qualité.

Le prélèvement servira donc aux analyses de réception et à prélever la quantité à placer dans l'échantillothèque,, local dans lequel sont conservés les échantillons de matières premières, d'articles de conditionnement et de produits finis.

Pour les analyses d'identification de la matière première, un prélèvement sera effectué sur chaque contenant.

2-1) Prélèvement et classement des échantillons :

Les échantillons sont des prélèvements représentatifs d'un lot destiné à être conservés en vue d'éventuelles analyses contradictoires :

6.3 Échantillonnage :

Le prélèvement d'échantillons doit s'effectuer selon des procédures écrites et approuvées précisant :

- La méthode d'échantillonnage.
- Le matériel à utiliser.
- La quantité d'échantillonnage à prélever.
- Les instructions pour toute division de l'échantillon.
- Le type de la nature du récipient à utiliser.
- L'identification des récipients à partir desquels des échantillons ont été prélevés
- Toute précaution particulière à observer, particulièrement lors de l'échantillonnage des produits stériles ou dangereux.
- Les conditions de stockage.
- Les instructions de nettoyage et de stockage du matériel d'échantillonnage
- Les échantillons qui devront éventuellement servir de référence doivent être représentatifs du lot ils sont issus d'autres échantillons peuvent également être

prélevés pour surveiller les étapes délicates d'une production (par exemple, le début ou la fin d'un processus de fabrication).

- Les récipients contenant des échantillons doivent une étiquette mentionnant le contenu, le numéro de lot la date d'échantillonnage et les récipients à partir desquels les échantillons ont été prélevés.
- Les échantillons de référence de chaque lot de produit fini doivent être conservés pendant un an après la date de péremption
- Les produits finis doivent normalement être conservés dans leur conditionnement définitif et selon les conditions recommandées.
- Les échantillons de matières premières (sauf les solvants, les gaz et l'eau) doivent être conservés aussi longtemps que sont conservés les échantillons des produits finis fabriqués avec ces lots. Ces échantillons doivent être conservés en quantité suffisante pour effectuer au moins une analyse complète cette période peut-être raccourci si leur stabilité, mentionnée dans la spécification correspondante est inférieure.

Tableau IV : les conditions de conservation des Echantillons.

Température	25°C
Humidité	≤ 65% HR

La conservation de ces échantillons doit se faire au niveau de l'échantillothèque dans des conditions climatiques normales température < 27° c, des conditions spécifiques peuvent être demandées pour certains produits. Selon les BPF, les échantillons de matières premières autres que les solvants, les gaz et l'eau doivent être conservés avec les échantillons des produits finis fabriqués avec ces lots. Ainsi pour les matières premières, la durée de conservation est de **10 ans** après la date de péremption de la matière en question est attribuée

6.4 **Circuit d'un échantillon au labo de contrôle :**

1. Prélèvement
2. Réception
3. Enregistrement et stockage
4. Contrôle de la documentation
5. Préparation des réactifs et enregistrement
6. Contrôle des AC
7. Contrôle des MP
8. Exemple réel avec monographie de contrôle de MP
9. Contrôle des PF
10. Contrôle microbiologique des MP et PF
11. Cas de résultat non conforme

Partie expérimentale :

7 Partie expérimentale : Laboratoire des Analyses Microbiologique

7.1 Préparation et contrôle des milieux et des diluants en microbiologie

a- Objet :

Définir les modalités de préparation et de contrôle des milieux de culture pour assurer les propriétés requises pour leur usage.

b- Matériel et milieux

- ✓ Réfrigérateur 2-8°C
- ✓ Incubateur 30-35°C pour les bactéries
- ✓ Incubateur à 20-25°C pour les levures et moisissures
- ✓ Incubateur à 42-44°C
- ✓ Poste de sécurité microbiologique
- ✓ Micropipette de 10-100 µL et 100-1000 µL
- ✓ Embouts stérile de 10-100 µL et 100-1000 µL
- ✓ boîte de pétri en plastique stérile
- ✓ Pipette de pasteur en verre pour étalement
- ✓ Milieux de culture à tester
- ✓ Solution peptonée tamponnée au NaCl à pH7
- ✓ Eau purifiée
- ✓ Souches de références
- ✓ Bain-marie 100°C et 45°C
- ✓ Autoclave pour la stérilisation du matériel et des milieux de culture
- ✓ Autoclave pour la destruction des produits souillés

1- Préparation des milieux et des diluants :

a- Préparation des milieux nutritifs

Pesée :

avant toute pesée, et à l'ouverture du flacon, il faut toujours vérifier les paramètres suivants :

- Date de péremption du milieu
- Absence d'agglomération
- Couleur du milieu
- Absence d'odeur rance

Pesée la quantité du milieu déshydraté nécessaire pour la préparation d'une quantité d'un litre.

+ Dissolution :

- mettre la prise d'essai dans un bécher contenant 500 ml d'eau purifiée
- Homogénéiser
- Compléter à 1000 ml avec l'eau purifié

+ Ajustement du pH avant stérilisation :

- le ph est contrôlé à l'aide d'un ph-mètre à compensation de température
- Les normes sont indiquées sur le flacon du milieu
- Ajuster Le ph si nécessaire à l'aide d'une solution Hcl 1M ou Naoh 1 M

+ Répartition et stérilisation :

- avant d'être stérilisés, les milieux sont répartis en tube ou en flacon suivant leur mode d'utilisation
- Les températures et les durées de stérilisation diffèrent selon la nature du milieu
- La fin de la validité de la stérilisation est indiquée par le virage de couleur de l'indicateur de stérilité

+ Vérification du ph après stérilisation :

- Si la valeur du ph n'est pas dans les normes décrites sur le flacon du milieu par le fournisseur, le lot préparé est déclaré non conforme et il est écarté.

b- Préparation du diluant :

pour les diluants procéder comme pour la préparation du milieu nutritif et sélectif.

c- Date limite d'utilisation :

la date limite d'utilisation des diluants et des milieux liquides préparés est de **1 mois** après la préparation, alors que pour les milieux gélosés la date limite d'utilisation est de **2 mois**.

Pour valider ces dates limites d'utilisation, à la fin de la durée de conservation il faut vérifier la fertilité ou la stérilité pour chaque préparation ceci va se réaliser sur 3 lots différents.

Pour chaque flacon, on doit préparer une fiche de préparation des milieux et des diluants en microbiologie.

2- Contrôle des milieux nutritifs et des milieux préparés :

ces contrôles s'effectuent sur tous les lots de milieux, achetés prêtes à l'emploi ou préparés à partir de milieux déshydratés ou des ingrédients décrits.

a- Contrôle de stérilité des milieux préparés et des diluants :

+ milieux nutritifs :

Prélever un flacon du milieu stérilisé, le laisser refroidir puis incubé pendant 7 jours selon les conditions particulières spécifiques à chaque milieu.

+ Diluants :

Exemple : Tampon au chlorure de Sodium, eau purifiée

- ensemencer 10 ml de la solution à tester dans 90 ml de bouillon aux peptones de caséine et de soja (pour recherche des bactéries) puis incubé à 30°C-25°C pendant 7 jours.
- ensemencer 10 ml de la solution à tester dans 90 ml du bouillon Sabouraud (pour recherche des levures et moisissures) puis incubé à 20°C -25°C pendant 7 jours.

✚ Résultats :

- aucune pousse ne doit apparaître après écoulement du temps d'incubation
- dans le cas contraire, le lot préparé est déclaré non stérile et il est étiqueté « à détruire »

Recherche des micro-organismes spécifiés

1- Matériel et milieux de culture

- Flacon en verre de 250 ml autoclavables ;
- Flacons autoclavables pour prélèvements de matière ;
- Autoclave ;
- Bain-marie
- PH-mètre ;
- Balance de précision ;
- Hotte à flux laminaire ou PSM ;
- Alcool à 70° ;
- Solution tampon pH 7 peptonée au chlorure de sodium ;
- Bouillon caséine soja
- Bouillon d'enrichissement pour entérobactéries selon Mossel ;
- Gélose au vert brillant ; bile et glucose (VRBG)
- Bouillon Mac Conckey
- Gélose Mac Conckey
- Bouillon Rappaport Vassiliadis
- Gélose Xylose-lysine-Désoxycholate (XLD) ;
- Gélose Cetrimide
- Milieu renforcé pour clostridies ;
- Gélose Columbia
- Bouillon Sabouraud dextrose ;
- Gélose mannitol-sel
- Gélose de Sabouraud dextrose gélosé ;
- Incubateur 20°C-25°C
- Incubateur 30°C-35°C
- Incubateur 42°C-44°C.

a- Préparation de l'échantillon

Préparer l'échantillon selon les caractéristiques physiques de produit à examiner :

produits hydrosolubles : diluer 10 g ou 10 ml du produit à examiner au 1/10 dans la solution tampon peptonée au chlorure de sodium ph 7.0 ; ajuster si nécessaire à ph 6-8.

Mélanger soigneusement et maintenir si nécessaire à la température voulue, dans un bain-marie. Ajouter le **myristate d'isopropyle** stérilisé par filtration, préalablement chauffé, en quantité requise pour obtenir une dilution aux 1/10 du produit initial. Mélanger soigneusement tout en maintenant à la même température pendant le temps minimum nécessaire à la formation d'une émulsion.

Tableau V : Méthodes de recherche de microorganismes spécifiés.

Germes recherchés	Echantillon préparé	Pré-incubation	sélection	Subculture
Bactérie Gram – résistantes aux sels biliaires	10 g du produit à examiner, dilué au 1/10 dans du bouillon caséine-soja	20-25°C pendant 2-5h	Ensemencement d'un milieu Mossel. 30-35°C/24-48h	Repiquer sur du milieu gélosé VRBG 30-35°C/18-24h
E.coli	Voir ci dessus	Ensemencer le milieu liquide caséine-soja avec 10 ml de l'échantillon préparé. 30-35°C à 18-24h	Transférer 1 ml du milieu de préincubation caséine-soja dans 100 ml de bouillon Mac Conckey. 42-44°C/24-48h	Repiquer sur gélose Mac conckey 30-35°C/18-72h
Salmonelles (colonies rouges bien développées avec ou sans centre noir)	-	Ensemencer le milieu liquide caséine-soja avec 10 g ou 10 ml du produit. 30-35°C/18-24h	Transférer 0,1 ml du milieu de préincubation caséine-soja dans 10 ml de milieu Rappaport Vassiliadis 30-35°C/18-24h	Repiquer sur gélose Xylose-lysine-Désoxycholate 30-35°C/18-24h
Pseudomonas aeruginosa	Voir ci dessus	Ensemencer le milieu liquide caséine-soja avec 10 ml de l'échantillon préparé à 30-35°C 30-35°C/18-24h	Repiquer sur gélose Cétrimide 30-35°C/18-72h	
Staphylococcus aureus	Voir le chapitre ci dessus	Ensemencer le milieu liquide caséine-soja avec 10 ml de l'échantillon préparé. 30-35°C/18-24h	Repiquer sur gélose mannitol-sel (colonies jaunes/blanches entourées d'une zone jaune) 30-35°C/18-72h.	

Candida albicans (colonies blanches)	Voir le chapitre ci dessus.	Ensemencer 100 ml du bouillon Sabouraud dextrosé avec 10 ml de l'échantillon préparé. 30-35°C/3-5 jours	Repiquer sur milieu Sabouraud dextrosé gélosé. 30-35°C/24-48h.
---	-----------------------------	---	--

Exemple d'un produit fini :

a. Etape de pré-incubation :

Son analyse microbiologique consiste à prélever 10 ml du sirop et l'incuber dans 90 ml du bouillon peptoné tamponné a NAACL PH =7 pour la dilution, ensuite une fois le mélange est prêt. On va diluer 10 ml du produit mélangé aux 1/10 dans Le bouillon TS, et puis ajuster si nécessaire à ph 6-8. et enfin on le met dans l'incubateur pendant 18h à 24 h.

b. La méthode de filtration : 10 ml.

On a préparé 6 milieux de cultures contenant de la gélose du sabouraut et 6 milieux de cultures contenant le bouillon caséine soja (un milieu non spécifique pour les germes aérobies), puisqu'on a 6 lots de sirops. On installe les entonnoirs et les papiers-filtres dans leurs places on mets 10 ml de l'échantillon incubé et on rajoute 150 ml de solution de rinçage, on ferme les vans des entonnoirs stérilisés pour récupérer les filtres contenant juste les bactéries.

- Incubation **des milieux gélosés aux peptones de caséine et de soja** a 30 -35°C pendant 3 à 5 j.
- Incubation **des milieux sabouraut dextrose gélosé** a 20°-25°C pendant 5 à 7 j.

c.Etape de sélection :

Cette étape consiste à prélever **1 ml** des flacons de caséine soja incubé pendant 24 h dans l'incubateur 30° à 35°C on va le diluer dans **100 ml du bouillon Macconkey** pour rechercher Escherichia coli.

d-Etape de subculture :

repiquer **sur la gélose Macconkey** 30-35°C/18-72h par un ensemencement en surface sur les boîtes de pétris. À l'aide d'un étaleur stérile

e-Lecture des boîtes de petris : résultat

On a remarqué que les colonies observées dans le milieu caséine soja sur les 6 LOTS (DGAT : Dénombrement des germes aérobies totaux) est inférieur à 10^2 Ufc /g.

On a remarqué que les colonies observées dans le milieu sabouraut (DMLT : dénombrement des moisissures et des levures) est inférieur à 10^3 Ufc /g.

Et on observe qu'il y a une absence au niveau d'Escherichia coli.

NB : D'après les résultats présentés ci-dessous, on peut dire que le produit fini est stérile et d'une bonne qualité hygiénique et il ne contient pas de contaminations microbiologiques. Donc les résultats sont conformes puisque les colonies retrouvées ne dépassent pas les normes rédigées dans la procédure.

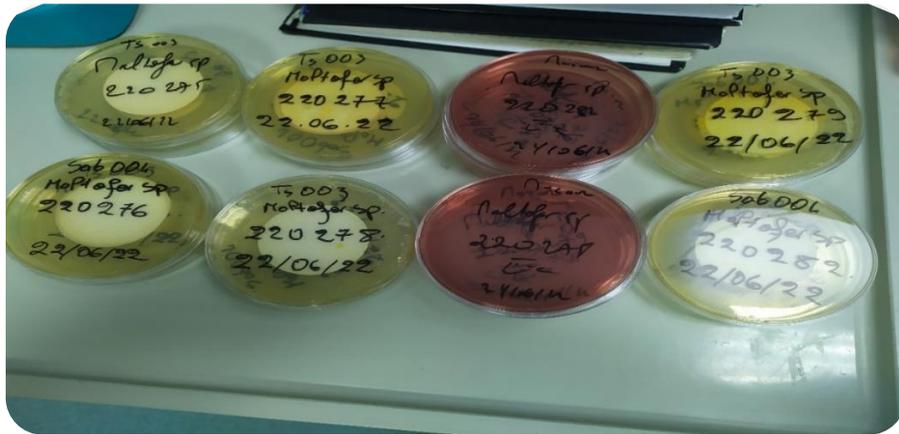


Figure 4 : boîtes de pétris contenant des filtres pour la recherche des colonies

Partie : Matériels et Méthodes

7.2 Contrôle physico-chimique de produit fini (PF) :

7.2.1 Spécification du febrate :

A-définition :

2[4-(4-chlorobenzoyl) phénoxy] -2méthylpropanoate de 1-méthyléthyle.

Teneur : 98,0 pour cent à 102,0 pour cent (substance desséchée)

B-Caractères :

Aspect : poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche

Solubilité : pratiquement insoluble dans l'eau, très soluble dans le chlorure de méthylène, peu soluble dans l'éthanol a 96 pour cent.

C -Identification

Point de fusion (2.2.14) :79°C A 82°C

Spectrophotométrie d'absorption dans l'infra rouge (2.2.24)

Préparation : pastilles

Comparaison : fénofibrate SCR.

7.2.2 Monographie de contrôle :

Types des équipements utilisés :

1) La chromatographie liquide haute performance :

HPLC est une technique de séparation chromatographique reposant sur la distribution différentielle des espèces entre deux phases non miscibles, une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile liquide qui traverse, par percolation, cette phase stationnaire.



Figure 5 : chromatographie liquide à haute performance.

Description :

- ✚ La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification.
- ✚ A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis

pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est pourquoi on l'a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC).

- ✚ Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.
- ✚ La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.
- ✚ Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.
- ✚ En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé le chromatogramme.

2) *Appareil de dissolution :dissolutest*



Figure 6 : dissolutest ERWEKA .

- ✚ Le dissolutest est un appareil utilisé pour déterminer la vitesse de la dissolution et le taux de libération des principes actifs des formes solides comme les comprimés et les capsules. Pour faire ce test, le milieu de dissolution doit être préparé selon la pharmacopée européenne ainsi que de nombreux paramètres Expérimentaux tels que **la vitesse de rotation des palettes, la température, le pH et le temps** sont fixées.

3) Titrateur karl fisher :

La teneur en eau de certains composés entrant dans la formulation des produits pharmaceutiques doit être connue avec une grande importance. Cette teneur en eau est déterminée selon la méthode KARL FISHER présenté ci-dessous :



✚ Le titrage par la méthode Karl Fischer consiste en l'indication du point final qui est donnée par la mesure de la tension sur une électrode polarisée, la dérive correspond à la quantité d'eau pénétrant en un temps donné dans la tête de titrage , elle est indiquée en **$\mu\text{g H}_2\text{O}/\text{min}$** .

✚ Doté des avantages suivants :

- spécificité et précision élevées.
- Gamme très large de concentrations
- Durée de détermination courte.

Figure 7 : Titrateur KARL fisher

4) Spectrophotomètre UV-VISIBLE :



Figure 8 : le spectrophotomètre UV-visible.

✚ La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la Lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par **la loi de Beer-Lambert**. La densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier.

Méthodes utilisées :

- 1- Déterminer l'aspect :
 - 2- Masse moyenne et uniformité de masse :
 - 3- Identification par HPLC :
 - 4- Dissolution :
 - 5- Teneur en eau par le titrateur Karl Fisher :
 - 6- Détermination des impuretés :
- ✚ Pour **la 1re étape** : l'aspect il s'agit d'une gélule de taille N°2 type SNAP CAP avec un corps transparent et une coiffe de couleur contenant un granulé blanc.
 - ✚ Pour **la 2e étape (MM)** : on a calculé **le contenu net** des microparticules en soustrayant le poids des gélules vides du poids des gélules intactes.
 - ✚ Pour **la 3e étape** : Uniformité de masse et la teneur en eau : on a pesé individuellement **20 gélules** prélevées au hasard, et on a calculé le contenu net de chaque gélule, 18 sur 20 doivent se situer dans l'intervalle $MM \pm 10\%$,pour la Teneur en eau consiste à déterminer la teneur en eau sur un échantillon de 500 mg du produit, par la méthode KARL FISHER.
 - ✚ **4e étape : l'identification par HPLC** : tout d'abord on a préparé la **phase mobile** qui consiste à mélanger de 30 volumes de l'eau acidifiée a $ph 2,5 \pm 0,05$ (ajustée avec l'acide orthophosphorique) et 70 volumes d'acétonitrile. Ensuite on a filtré à travers un filtre seringue et puis dégazage au bain-marie.



Figure 9 :Les vials utilisées pour l'HPLC

Ensuite on a préparé **la solution standard** avec 25 mg de fenofibrate une fois introduit dans une fiole jaugée de 100 ml on a ajouté 70 ml de la phase mobile dissoudre aux bains à ultrasons. Ensuite laisser refroidir et compléter jusqu'à trait de jauge avec la phase mobile et mélanger.

Pour la préparation de **la solution essai** qui consiste à déterminer la masse moyenne par le broyage des pellets jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Peser avec précision l'équivalent de 100 mg de fenofibrate (environ 151 mg) et l'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajouter 70 ml de la phase mobile et passer aux ultrasons pendant **15 min**. Refroidir à la température ambiante, compléter jusqu'à trait de jauge avec la phase mobile puis mélanger. Puis on filtre la solution avec papier filtre.

- ✚ **La 5e étape représente la dissolution** : correspond au pourcentage du principe actif dissout totalement ou partiellement, qui consiste à transférer 1000 ml du milieu de dissolution contenant de la solution **lauryl sulfate 0,1 M** dans les vases et fixer les palettes, attendre jusqu'à agitation et rajouter une gélule dans chacun des vases, la dissolution dure 30 min une fois elle sera terminée on prélèvera un aliquot de 10 ml de chaque vase au niveau de la zone médiane. Puis on passe à la filtration puis à la dilution par 1ml de solution dans 10 ml du milieu de dissolution.
- ✚ **La dernière étape consiste en la désagrégation** : qui correspond au temps nécessaire pour que le médicament soit dissout totalement.

Ce test est effectué sur 6 comprimés, conformément à la PH EU en vigueur.

Le dosage des impuretés connues standards A, B, G :

- **Solution d'impureté A** : peser avec précision 10 mg d'impureté A de Fenofibrate CRS, l'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajouter 70 ml de la phase mobile et dissoudre aux bains à ultrasons. Refroidir à une température ambiante et compléter jusqu'au trait de jauge avec la phase mobile et mélanger.
- **Solution d'impureté B** : peser avec précision 10 mg d'impureté B de Fenofibrate CRS, l'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajouter 70 ml de la phase mobile et dissoudre aux bains à ultrasons. Refroidir à une température ambiante et compléter jusqu'au trait de jauge avec la phase mobile et mélanger.
- **Solution d'impureté G** : peser avec précision 10 mg d'impureté G de Fenofibrate CRS, l'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajouter 70 ml de la phase mobile et dissoudre aux bains à ultrasons. Refroidir à une température ambiante et compléter jusqu'au trait de jauge avec la phase mobile et mélanger.

✚ **Préparation de la solution de résolution :**

Pipeter 1 ml de chaque solution d'impureté A, B, G séparément et les transférer dans une fiole jaugée de 50 ml, compléter jusqu'à trait de jauge avec la phase mobile et mélanger.

✚ **Préparation de la solution standard :**

Peser avec précision environ 10 mg de Fenofibrate Etalon de travail. L'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml, ajouter 70 ml de la phase mobile. Dissoudre aux bains à ultrasons, refroidir à température ambiante et compléter jusqu'à trait de jauge avec la phase mobile la même que la précédente et mélanger. Diluer 1ml de cette solution dans une fiole jaugée de 50 ml avec la phase mobile et mélanger.

✚ Préparation de la solution essai :

Peser le contenu de 20 gélules et déterminer la masse moyenne, broyer les pellets jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Peser avec précision l'équivalent de 100 mg de Fenofibrate (environ 151 mg) et l'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml, ajouter 70 ml de la phase mobile et passer aux ultrasons pendant 15 min. Refroidir à la température ambiante, compléter jusqu'à trait de jauge avec la phase mobile et mélanger.

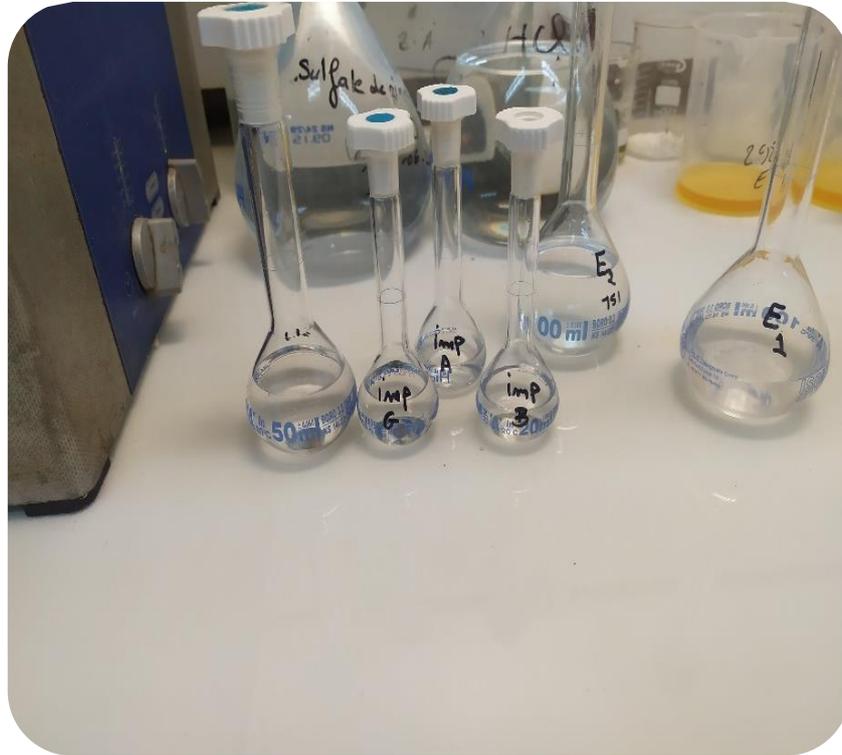


Figure 10: Les solutions préparés lors de la manipulation

*Partie : Résultats et
Discussions*

7.2.3 Résultats et interprétions :

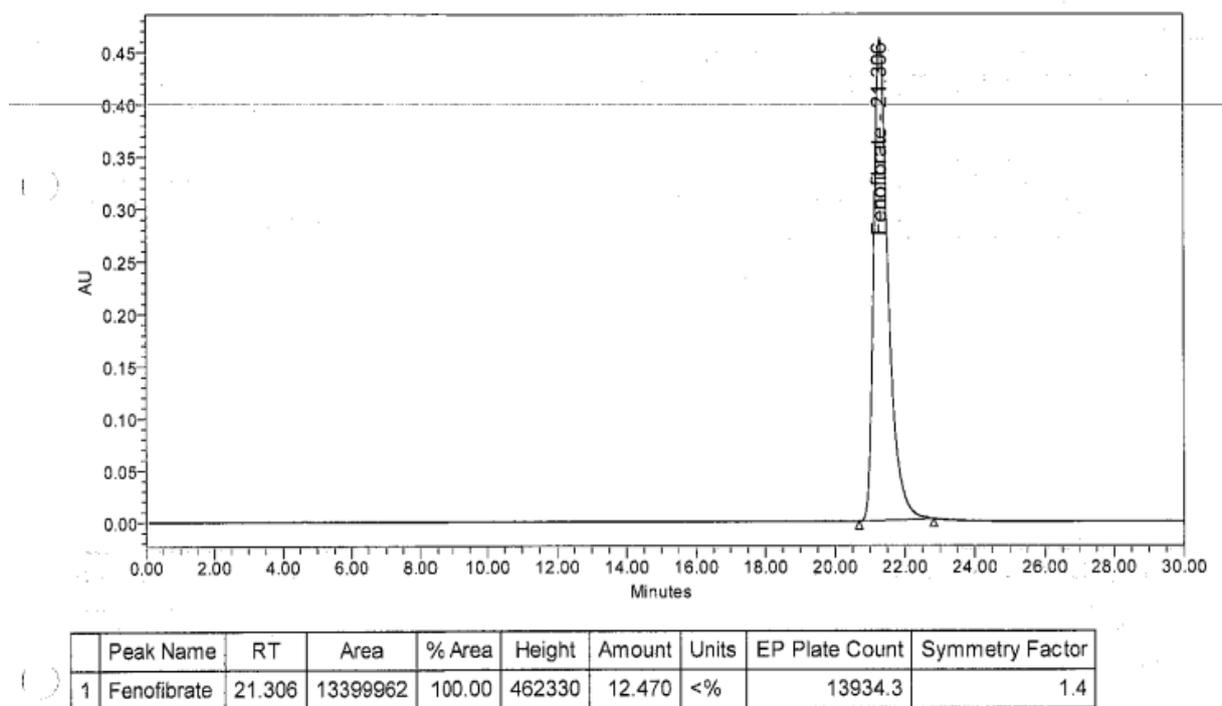
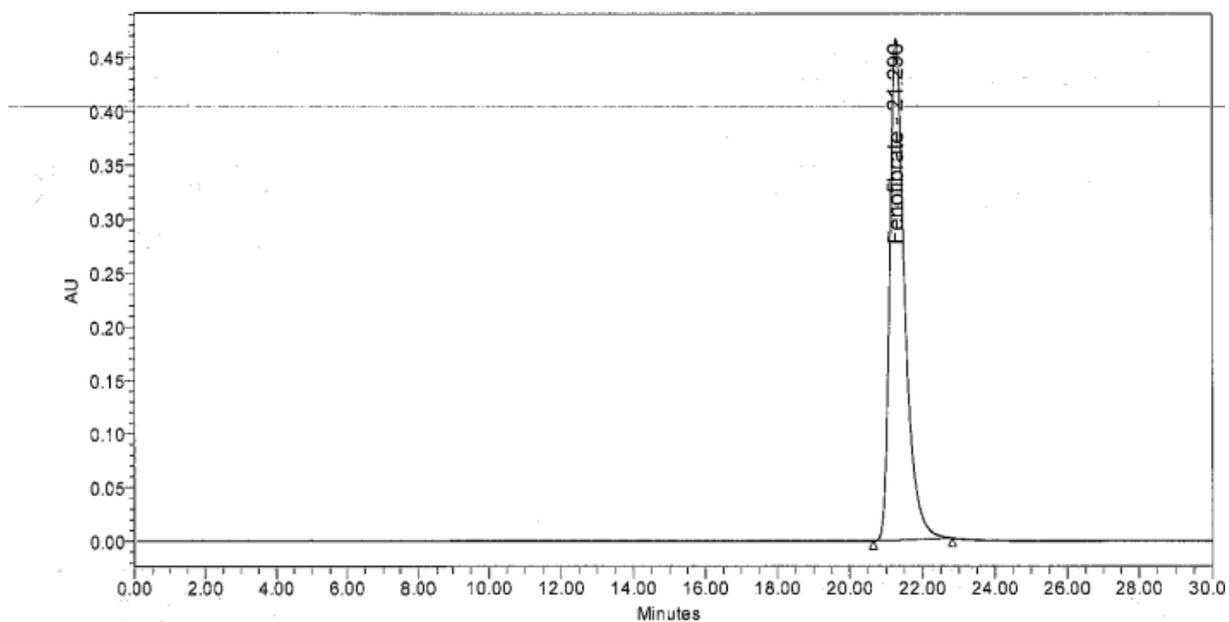


Figure 11 : Le pic représentant le standard.

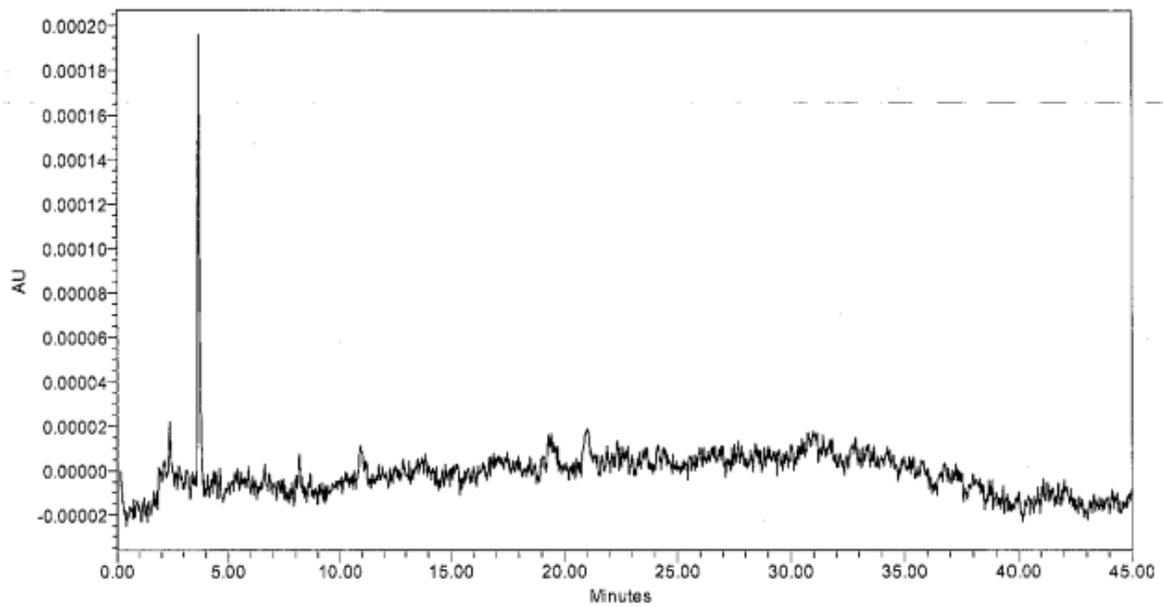
- ✚ Initialement, l'étalon est injecté pour vérifier la conformité du système chromatographique (CV, RSD, Nombre de plateaux).
- ✚ Le standard ne contient que le principe actif, c'est la solution référentielle.
- ✚ En deuxième lieu, on l'injecte avec la même concentration que l'essai, en appliquant la formule de calcul ci-dessus on pourra calculer le pourcentage du principe actif :
$$\% \text{ PA} = (A_{\text{essai}} \div A_{\text{std}}) \times (C_{\text{std}} \div C_{\text{essai}})$$



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Fenofibrate	21.290	13505830	100.00	467437	98.361	<%	14046.0	1.4

Figure 12 : Le pic représentant l'essai

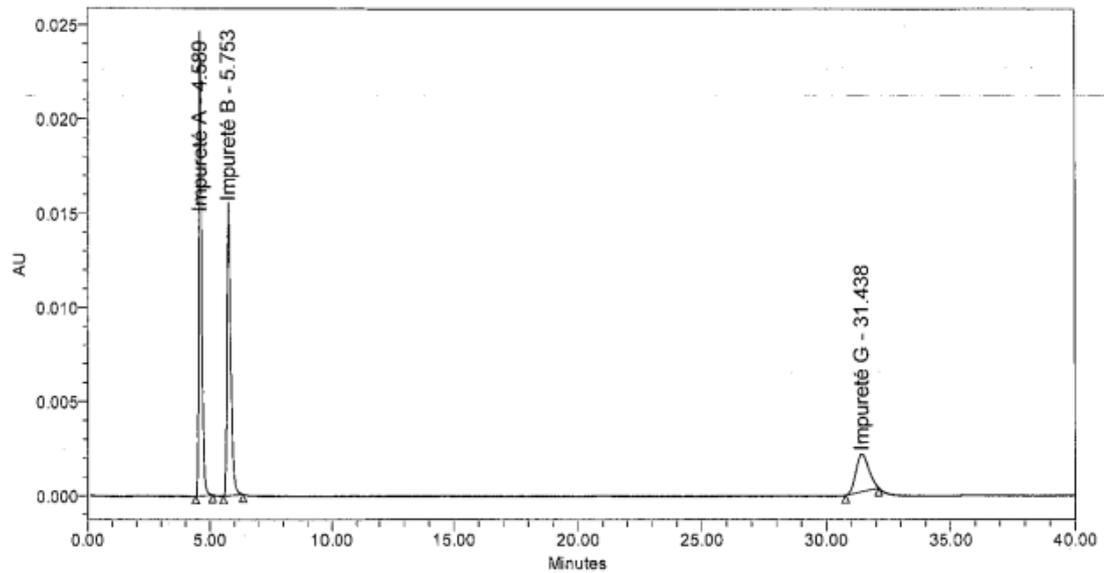
- ✚ L'essai représente le calcul du PA exact par rapport au témoin et vérifier si le dosage du PA est semblable à la dose prescrite dans l'étui et vérifier aussi s'il y a une apparition de la dégradation du PA ou s'il y a eu une contamination par des agents étrangers (les substances apparentées).



	Peak Name	RT
1	Impureté A	4.655
2	Impureté B	5.890
3	Impureté C	10.451
4	Impureté D	13.582
5	Impureté E	16.724
6	Impureté F	17.761
7	Fenofibrate	21.117
8	Impureté G	31.469

Figure 13 : le pic représentant le blanc

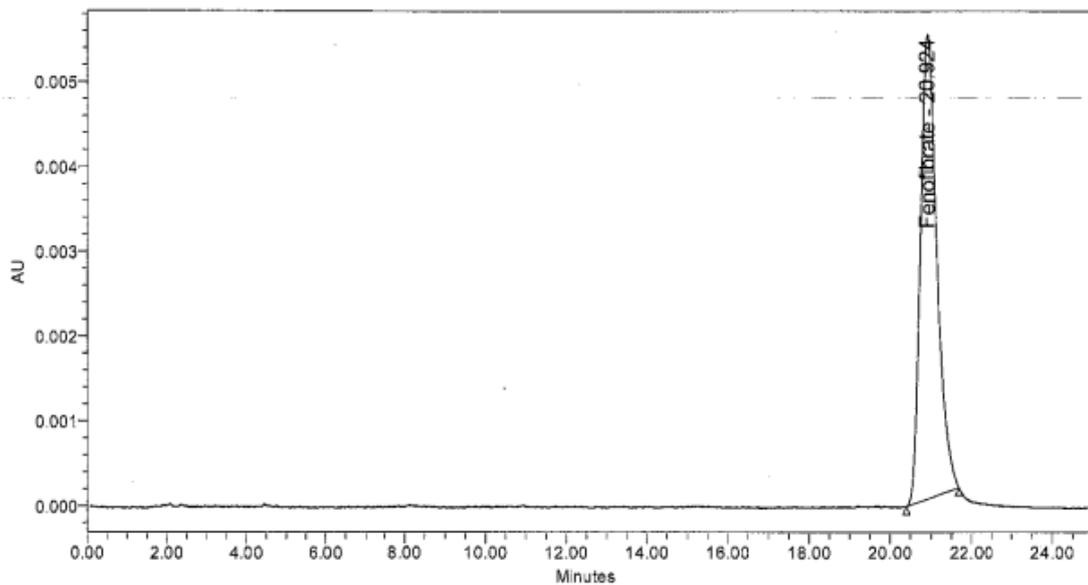
- Le blanc représente le diluant dans lequel le PA est dissous, en vue de son identification dans l'essai.



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	EP Plate Count	Resolution	Symmetry Factor
1 Impureté A	4.589	193942	45.36	24718	8672.4		1.4
2 Impureté B	5.753	160833	37.62	15546	8087.7	5	1.5
3 Impureté C	10.451						
4 Impureté D	13.582						
5 Impureté E	16.724						
6 Impureté F	17.761						
7 Fenofibrate	21.117						
8 Impureté G	31.438	72784	17.02	1999	15890.5	41	1.1

Figure 14 : le pic représentant le SST pour la résolution

- ✚ Le SST représente la solution de résolution, elle sert à vérifier la conformité de système et la bonne séparation entre les pics des impuretés spécifiques selon les normes établies par la PH EU. Il permet également de déterminer la durée de rétention par rapport à chacune des impuretés connues ainsi que son facteur de symétrie.



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Impureté A	4.655					
2 Impureté B	5.890					
3 Impureté C	10.451					
4 Impureté D	13.582					
5 Impureté E	16.724					
6 Impureté F	17.761					
7 Fenofibrate	20.924	152479	100.00	5482	13550.5	1.3
8 Impureté G	31.469					

Figure 15 : pic représentant le standard de l'impureté

- ✚ Le standard de l'impureté sert tout d'abord à vérifier les conditions chromatographiques (colonne, l'injecteur) ainsi que le calcul du pourcentage des impuretés par la surface obtenue diluée à celle de l'essai en cas d'absence des impuretés au niveau de l'essai.

Conclusion :

7.2.4 Conclusion :

Dans notre travail, nous avons réalisé les différentes analyses physicochimiques pour contrôler la qualité du produit fini au sein du laboratoire de zénith pharma et mettre la conformité a toutes les substances testées.

De nombreuses techniques d'analyse sont disponibles pour assurer la conformité que ce soit pour les produits finis ou les matières premières ou les produits semi-œuvrées garantissant l'efficacité du traitement selon la PH EU 10e Edition et le certificat d'analyse fourni par l'assurance qualité. La conformité des produits à usage pharmaceutique permet d'avoir une vision exacte et détaillée au niveau de la qualité.

Les résultats de toutes les identifications et les essais sont appropriés aux normes données dans la PH EU, Le produit utilisé est conforme selon les analyses effectuées : l'aspect, la dissolution, la recherche des impuretés par l'HPLC et le dosage du principe actif fénofibrate.

Une surveillance active de ces paramètres critiques doit être maintenue pour garantir la qualité des produits et déclencheront si nécessaire des actions correctives ou préventives. Tout ceci contribuera forcément à une amélioration de la qualité des médicaments et par conséquent une diminution des problèmes de la santé publique.

Les références bibliographiques :

- [1] Nathalie K. Zgheib, S. L. Good Clinical Practice and Good Laboratory Practice. Beirut, Pittsburgh: Elsevier , 2017.
- [2] Blanchot-Isola, C. L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Elsevier, 2013. 171-173.
- [3] Adam C. Fisher, S. L. Advancing pharmaceutical quality: An overview of science and. International Journal of Pharmaceutics, 2016, 390-402.
- [4] Caulin, C. Historique de l'évaluation des médicaments en vue d'une autorisation de mise sur le marché. Journal Français d'Ophtalmologie, 2008. 71-74.
- [5] S. Mouly, V. D.-F. Évaluation de l'efficacité d'un médicament : J. Fr. Ophtalmol, 2008. 75-79.

Les références webographiques :

Abrégé de pharmacie galénique.
Pharmacopée européenne 10e Edition.
Referentiel des BPF.

Resume:

Title: physico-chemical and microbiological control of medicinal products.

Author: KERRICH Lamyaa

Keywords: GMP, MA, capsules, syrup, HPLC.

Objective: The release of a good quality validation batch is an essential objective for each national health system to avoid batch recall due to deviation,
introduction: the implementation of a national drug regulatory system and the application of GMP instructions is an important step to protect public health and allow a good quality drug to reach the market and be marketed in a country or other countries, ensuring its quality, efficacy and safety through sample control by controlling a complete batch record and verified by the responsible pharmacist.

material and method: Medication control is an essential activity complementary to evaluation and inspection. It provides independent scientific expertise on the quality of health products and their safety of use. In compliance with the European Pharmacopoeia. The most known analyses: disaggregation, dissolution, HPLC for the dosage of the active ingredient fenofibrate.

The results obtained confirm that the product is in conformity and has a good pharmaceutical quality. The physicochemical and microbiological analyses carried out within Zenith Pharma in the control laboratory **discussion** allowed us to ensure the conformity of the manufactured product devoid of impurities, which guarantees a good effectiveness of the active principle during treatments.