

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année : 2012 – 2013

THESE

N°1492/13

Présentée en vue de l'obtention du

**DIPLOME D'ETAT DE
DOCTEUR EN PHARMACIE**

Par

Mlle ABLE Nina Carine

INTERNE DES HOPITAUX

**Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et
des substances apparentées**

Soutenue publiquement le 28 janvier 2013

Composition du jury

Président : Madame **AKE Michèle**, Professeur Titulaire

Directeur de thèse : Monsieur **MALAN KLA Anglade**, Professeur Titulaire

Assesseurs : Madame **KOUASSI Agbessi Thérèse**, Maître assistante

Monsieur **DALLY Laba Ismaël**, Assistant

**ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT
DE L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
ET BIOLOGIQUES**

I. HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires :	Professeur RAMBAUD André
	Professeur FOURASTE Isabelle
	Professeur BAMBA Moriféré
	Professeur YAPO Abbé †
	Professeur MALAN Kla Anglade
	Professeur KONE Moussa †

II. ADMINISTRATION

Directeur	Professeur ATINDEHOU Eugène
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Secrétaire Principal	Monsieur BLAY Koffi
Secrétaire Principal Adjoint	Madame AKE Kouadio Api Eugénie
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1. PROFESSEURS TITULAIRES

Mme AKE Michèle	Chimie Analytique
M ATINDEHOU Eugène	Chimie Analytique, Bromatologie
Mme KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie
MM KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique
MALAN Kla Anglade	Chimie Ana., contrôle de qualité
MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mme ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacologie
AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire
DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie.
Mme AKE EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
MM INWOLEY Kokou André	Immunologie
KABLAN Brou Jérôme	Pharmacologie
KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme KOUAKOU SIRANSY N.	Pharmacologie
MM KOUASSI Dinard	Hématologie
LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
OUATTARA Mahama	Chimie thérapeutique
Mme SAWADOGO Duni	Hématologie

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

MM	YAPI Ange Désiré YAVO William ZINZENDORF Nanga Yessé	Chimie organique, chimie thérapeutique Parasitologie - Mycologie Bactériologie-Virologie
----	--	--

3. MAITRES DE CONFERENCES (CAMES)

M	YOLOU Séri Fernand	Chimie Générale
---	--------------------	-----------------

4. MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

M	DIAFOUKA François	Biochimie et Biologie de la Reproduction
---	-------------------	--

5. MAITRES ASSISTANTS

MM	AMARI Antoine Serge G.	Législation
	AMIN N'Cho Christophe	Chimie analytique
Mme	BARRO KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
MM	BONY François Nicaise	Chimie Analytique
	CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
.	DEMBELE Bamory	Immunologie
	DJOHAN Vincent	Parasitologie -Mycologie
	EZOULIN Miezan Jean Marc	Toxicologie
	GBASSI K. Gildas	Chimie Minérale
Mme	KOUASSI AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie
MM	OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
Mme	SACKOU KOUAKOU Julie	Santé Publique
MM	YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie moléculaire

6. ASSISTANTS

MM	ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
	ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
Mme	AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Immunologie
Mme	AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
MM	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
	ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie
Mme	AYE YAYO Mireille	Hématologie
MM	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	CABLAN Mian N'Ddey Asher	Bactériologie-Virologie
	DALLY Laba	Galénique
Mlle	DIAKITE Aïssata	Toxicologie
M	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
Mlle	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
M	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mlle	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
Mmes	HOUNSA Annita Emeline Epse Alla	Santé Publique
	IRIE N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

MM	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
	KACOU Alain	Chimie Thérapeutique
	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mlle	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
M	KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
MM	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
Mme	LEKADOU KORE Sylvie	Santé Publique
MM	MANDA Pierre	Toxicologie
	N'GUESSAN Alain	Galénique
Mmes	N'GUESSAN-BLAO Amoin Rebecca J.	Hématologie
	OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Pharmacognosie
	POLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques biophysique
	SANGARE Mahawa	Biologie Générale
	SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
MM	TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mmes	VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
	YAO ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M.	YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale

7. IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOÉ Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

1. PROFESSEURS

M	ASSAMOI Assamoi Paul	Biophysique
M	DIAINE Charles	Biophysique

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mme	TURQUIN née DIAN Louise	Biologie Végétale
MM	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale
	YAO N'Dri	Pathologie Médicale
	ZOUZOU Michel	Cryptogamie

3. NON UNIVERSITAIRES

MM.	AHOUSSE Daniel Ferdinand	Secourisme
	DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie.
	KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
	N'GOZAN Marc	Secourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
	KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
	OKPEKON Aboua Timothée	Chimie Analytique, Chimie Générale.
Mme	PAYNE Marie	Santé Publique

**COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE
L'UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES
ET BIOLOGIQUES**

I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé Chef de département
Professeur	ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KOUASSI AGBESSI Thérèse	Maître Assistante
	OUASSA Timothée	Maître Assistant
	CABLAN Mian N'Dédey Asher	Assistant
	DOTIA Tiepordan Agathe	Assistante
	LATHRO Joseph Serge	Assistant

II. BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE

Professeur	MONNET Dagui	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	AHIBOH Hugues	Maître de Conférences Agrégée
	AKE EDJEME N'Guessan Angèle	Maître de Conférences Agrégée
	DIAFOUKA François	Maître de Conférences
	HAUHOLOT ép. ATTOUNGBRE M.L.	Maître de Conférences Agrégée
Docteurs	YAYO Sagou Eric	Maître Assistant
	KONAN Konan Jean Louis	Assistant
	KONE Fatoumata	Assistante

III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur	SAWADOGO Duni	Maître de Conférences Agrégé Chef du Département
Professeurs	INWOLEY Kokou André	Maître de Conférences Agrégé
	KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	DEMBELE Bamory	Maitre-assistant
	AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Assistante
	ADJAMBRI Adia Eusebé	Assistant
	AYE YAYO Mireille	Assistante
	KABRAN Tano K. Mathieu	Assistant
	KOUAME Denis Rodrigue	Assistant
	N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S.	Assistante
	SANGARE Mahawa	Assistant
	YAPO Assi Vincent De Paul	Assistant

IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	MALAN Kla Anglade AKE Michèle YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire Professeur Titulaire Professeur Titulaire
Docteurs	AMIN N'cho Christophe BONY Nicaise François GBASSI K. Gildas BROU Amani Germain KPAIBE Sawa Andre Philippe TRE Eric Serge	Maître Assistant Maître Assistant Maître Assistant Assistant Assistant Assistant

V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur	YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeur	OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé
Docteur	KACOU Alain	Assistant

VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur	MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeur	YAVO William	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	BARRO KIKI Pulchérie DJOHAN Vincent ANGORA Kpongbo Etienne KASSI Kondo Fulgence KONATE Abibatou VANGA ABO Henriette	Maître Assistante Maître Assistant Assistant Assistant Assistante Assistante

VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE , GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Docteurs	AMARI Antoine Serge G. AKA-ANY Grah Armelle A.S. DALLY Laba Ismaël N'GUESSAN Alain	Maître Assistant Assistante Assistant Assistant

VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGRAMIE,

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold FOFIE N'Guessan Bra Yvette OUAYOGODE-AKOU BET Aminata	Assistant Assistante Assistante

IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE, ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeurs	KABLAN Brou Jérôme	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
	ABROGOUA Danho Pascal	Maître de Conférences Agrégé
	KOUAKOU SIRANSY N'doua G.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AMICHIA Attoumou M	Assistant
	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Assistant
	EFFO Kouakou Etienne	Assistant
	IRIE N'GUESSAN Amenan G.	Assistante
	KAMENAN Boua Alexis	Assistant
	KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant

X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département par intérim
Docteur	POLNEAU VALLEE Sandrine	Assistante

XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de département
Professeurs	DANO Djédjé Sébastien	Maître de Conférences Agrégé
	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître Assistant
	EZOULIN Miézan Jean Marc	Maître Assistant
	SACKOU KOUAKOU J.	Maître Assistante
	DIAKITE Aissata	Assistante
	HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Assistante
	LEKADOU KORE Sylvie	Assistante
	MANDA Pierre	Assistant
	SANGARE TIGORI B.	Assistante
	YAO ATTIA Akissi Régine	Assistante

DEDICACES

Je dédie cette thèse à...

A Dieu le père, Dieu le fils, Dieu le Saint Esprit

*J'ai vu ta fidélité envers moi durant toutes ces années d'étude, j'ai
aussi expérimenté ton amour et ta puissance dans ma vie. Merci
Seigneur pour ta grâce.*

À mon père ABLE Ekissi Ambroise,

*Mon modèle, ton intelligence et ton expérience sont ma source d'inspiration.
Ta vocation explique ma passion pour la pharmacie. Tu mérites mon respect. Je
voudrais par cette thèse te rendre l'honneur qui t'es dû.*

À ma mère Mme ABLE née INDAT Marie.

*Tu es une mère qui en vaut mille, mon cœur d'enfant me dicte une sincère
reconnaissance pour tous tes sacrifices. Reçois cette thèse qui couronne toutes
ces années d'étude comme l'expression de cette reconnaissance.*

À mes frères et sœurs

- *ABLE Mick Héloge*
- *ABLE Annick Constance*
- *ABLE Liverdine*
- *ABLE Flora Maryse*
- *ABLE Ambrosine*
- *ABLE Stéphanie*
- *ABLE Eric Désiré Ambroise*
- *ABLE Ekissi Jean Junior*

Je vous remercie pour tout votre soutien et votre amour.

J'ai le regret de ma sœur ABLE Rose de Lima Elise trop tôt arrachée à notre affection.

Aux grandes familles ABLE et INDAT

J'espère que ce travail vous honorera.

À mon beau frère KOFFI olivier, mes neveux et nièces

KOFFI Jean Yvan, KOFFI Andrea Urielle, KOFFI Marie Esther, ABLE Christ Ryan et ABLE Leslie Aurore

Je vous aime de tout mon cœur, Dieu vous bénisse abondamment.

À Madamè SIÐIBÉ Nanténin

Je te renouvelle toute mon affection. Tu es une battante. Reçois cette thèse comme la reconnaissance et l'admiration que j'ai pour toi Maman.

À mes amis

Le couple ATTA, KOUADIO Elodie, GOLE Emmanuelle, vous êtes plus que des amis, vous êtes devenus ma famille et mon soutien moral. Je vous en remercie.

À mes amis de la faculté

ADO Aboua, AKA Yah Lucienne, AMICHIA Sylviane, AYEMOU Yves, BOSSON Jean Marie, BOUATINI Kouakou Severin, GOLOUO Inès, KONAN Gwladys, Jean Marie, SIKA Larry Duchel Anderson et toute la 27^{ème} promotion, ces années d'études ont été les meilleures pour moi. Les difficultés traversées ensemble, le soutien mutuel, toutes ces choses ont fini par nous rapprocher et faire de nous une grande famille.

À mes amis internes de la promotion 2008-2009

DJERE Auxence, KOFFI Jean Marc, KPAIBE Philippe, KPLE Denise, N'GUESSAN Née Amonkou Anne, OVI Agbedjé, SIBLI Née Koffi Joëlle, et tous les autres internes. Une très belle expérience que nous avons entrepris ensemble avec son lot de contraintes mais aussi de joies sachant que notre devise c'est d'être toujours les meilleurs. Je vous dédie ces travaux pour exprimer toute l'admiration que j'ai pour vous.

Au couple KONE DOGBEMIN

Vous êtes entrés dans ma vie à un moment où j'étais perdue, ayant besoin de repères et vous m'avez donné ces repères et appris à être une femme responsable. Je vous en remercie infiniment.

À mes responsables spirituels

- Pasteur TIACON Jean Marie
- Pasteur ADOU Jean Marie
- Pasteur COULIBALY Préfina
- Pasteur BROU Gildas

Merci pour l'encadrement, pour vos prières et vos encouragements qui ont permis ce jour. Que DIEU vous le rende au centuple.

À tous ceux que je n'ai pas pu nommer spécifiquement

Non pas que vous êtes moins important dans ma vie, vous l'êtes tous parce que votre présence dans ma vie est un plus parce que j'apprends à votre contact. Merci pour la chaleur que vous apportez dans ma vie et l'intérêt que vous portez à ma personne.

REMERCIEMENTS

Au Professeur LOUKOU Guillaume

Votre interne au service de biologie du LNSP, j'ai bénéficié de vos conseils et de toute votre compréhension, Cher Maître vous êtes un homme remarquable et suscitez l'admiration et le respect de tous.

Au Dr BONY Nicaise

Votre patience à toutes épreuves à mon égard en dépit des reports de calendrier de mon fait, m'a instruit de votre excellent sentiment quant à vos charges de formateur et d'encadreur de qualité. J'espère que cette thèse vous honorera.

Au Dr BLESSOUÉ Herman

Vous avez contribué à l'élaboration de ce travail. Vous n'avez ménagé aucun effort et je ne trouve pas les mots pour vous exprimer à sa juste valeur toute ma gratitude.

Au Dr ACKRAH Noël

Docteur, qu'il me soit permis de vous dire que vous m'avez transmis votre passion de la pharmacie, du respect du patient et des règles de l'éthique. Il n'y a pas de mot pour vous exprimer ma gratitude pour ce trésor que vous m'avez donné.

Au personnel du LNSP

Vous m'avez accueillie et acceptée en votre sein durant tous les travaux de cette thèse. Vous m'avez assisté et aidé énormément .Merci

**A NOS MAÎTRES
ET JUGES**

A notre maître et Président du jury

Madame le Professeur AKE MICHELE

- Docteur en pharmacie ;
- DESS en Nutrition, Diététique et Contrôle des Aliments Université Paris XI ;
- DEA option Sciences des aliments de l'université de Montpellier I, option sciences des aliments ;
- Doctorat de l'Université de Montpellier I, option Sciences des Aliments ;
- Professeur Titulaire en chimie analytique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan ;
- Pharmacien chef de la pharmacie et du laboratoire de nutrition de l'INSP d'Abidjan ;
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie ;
- Membre de l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC) ;
- Membre de la Société des Experts Chimistes de France.

Chère Maître,

Durant notre parcours universitaire, nous avons observé vos grandes qualités professionnelles et votre rigueur pour le travail bien fait.

Vous avez accepté avec spontanéité de présider ce jury malgré vos nombreuses occupations.

L'honneur est immense pour nous, de vous voir présider ce jury de thèse.

Permettez-nous de vous témoigner notre gratitude et l'expression de nos sentiments les plus respectueux.

A notre maître et directeur de thèse

Monsieur le Professeur MALAN KLA ANGLADE

- Professeur titulaire de chimie analytique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Doyen honoraire à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Responsable du DESS de contrôle de qualité des médicaments, aliments, et produits cosmétiques ;
- Directeur du Laboratoire National de la Santé Publique ;
- Expert de l'OMS.
- Membre de l'Académie Nationale de Pharmacie de France ;
- Membre de l'académie des sciences, des cultures, des arts et de la diaspora (ASCAD) ;
- Membre de la Société des Experts Chimistes de France ;
- Officier dans l'ordre du mérite de l'Enseignement Supérieur ;
- Commandeur de l'ordre de l'Enseignement supérieur ;
- Chevalier dans l'ordre de la Santé Publique ;

Cher Maître,

Vous nous avez marqué par vos qualités scientifiques et humaines qui font de vous un grand Maître.

Vous avez toujours été présent en dépit de vos multiples responsabilités.

Nous n'avons pas trouvé meilleure occasion pour vous exprimer notre grand respect et notre admiration profonde.

Nous vous remercions d'avoir accepté de diriger cette thèse.

Recevez, cher Maître, l'expression de notre infinie gratitude.

Que Dieu vous bénisse.

A notre maître et juge

Madame le Docteur KOUASSI AGBESSI THERESE

- Docteur en Pharmacie ;
- Maître-assistante au département de Bactériologie Virologie, à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Pharmacien biologiste (CES Biochimie Clinique, CES hématologie, CES parasitologie, CES bactériologie) ;
- Titulaire d'un DEA de Biologie Humaine Tropicale ;
- Responsable de l'unité de biologie à l'INHP (Institut National d'Hygiène Publique) ;
- 1^{er} prix d'infectiologie en 1992 ;
- Lauréat du concours d'internat (1989-1990).

Cher Maître,

Vous suscitez l'admiration et le respect par vos grandes qualités humaines et professionnelles.

Nous vous remercions d'avoir accepté d'apporter votre expertise scientifique à ces travaux.

Recevez cher maître le témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

Que Dieu vous bénisse.

A notre maître et juge

Monsieur le Docteur DALLY LABA ISMAËL

- Docteur en Pharmacie ;
- Chercheur au laboratoire de pharmacie galénique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Cocody ;
- Assistant chargé de cours et de travaux pratiques à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Cocody ;
- Pharmacien en poste au LNSP
- DEA de conception, réalisation et évaluation de médicaments issus de la pharmacopée traditionnelle, option pharmacotechnie ;
- DESS de toxicologie et d'hygiène agro-industrielle ;
- DESS de contrôle de qualité des médicaments, aliments et produits cosmétiques.

Cher Maître,

Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos qualités d'enseignant tout au long de notre cursus universitaire.

Recevez cher Maître le témoignage de notre infinie gratitude.

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX.....	XXIV
LISTE DES FIGURES.....	XXV
LISTE DES ABREVIATIONS.....	XXVI
INTRODUCTION.....	1
Première Partie : REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I- LE VIH/SIDA.....	5
I-1. HISTORIQUE.....	5
I-2. SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE.....	5
I-3TRAITEMENT.....	8
II- ZIDOVUDINE.....	19
II-1. HISTORIQUE.....	19
II-2. STRUCTURE CHIMIQUE.....	20
II-3. PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES.....	20
II-4. IDENTIFICATION.....	20
II-5. ESSAI.....	21
II-6. DOSAGE.....	21
III- CONTROLE QUALITE.....	Erreur ! Signet non défini. 23
III-1 DEFINITIONS.....	23
III-2. CONTROLE DES CARACTERES GENERAUX.....	24
III-3. CONTROLE GALENIQUE ET BIOGALENIQUE.....	26
III-4. CONTROLE ANALYTIQUE.....	30
III-5. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE.....	39
ETUDE EXPERIMENTALE.....	47
CADRE DE L'ETUDE.....	48
I- ECHANTILLONNAGE.....	48
II- MATERIEL ET METHODES.....	50
II-1 MATERIEL.....	50
II-2 METHODES.....	52
III-RESULTATS.....	63
III-1. CONTROLE DES CARACTERES GENERAUX.....	64
III-2 CONTROLES GALENIQUES ET BIOGALENIQUES.....	66
III-3 CONTROLE CHIMIQUE.....	69

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

III-4 DOSAGE QUANTITATIF DES ECHANTILLONS.....	81
III-5. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DES SIROPS	85
DISCUSSION	98
IV-1 CARACTERES GENERAUX	99
IV-2. CONTROLE GALENIQUE ET BIOGALENIQUES.....	100
IV-3. VALIDATION DE LA METHODE	101
IV-4 DOSAGE QUANTITATIF DES ECHANTILLONS	102
IV-5. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE	103
RECOMMANDATIONS.....	105
CONCLUSION	107
REFERENCES BIBLIOGRAPHIES	109

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : schéma thérapeutique.....	20
Tableau II : régularité de masse des gélules.....	33
Tableau III : exemple de solvants de classe 1.....	41
Tableau IV : critères d'acceptation microbiologiques.....	52
Tableau V : : présentation des échantillons	56
Tableau VI : contrôle de l'étiquetage des échantillons	71
Tableau VII: contrôle des caractères organoleptiques	72
Tableau VIII: résultat régularité de masse des gélules.....	73
Tableau IX: Temps de délitement des échantillons des gélules.....	74
Tableau X : résultats du test de dissolution	74
Tableau XI: conformité du système	81
Tableau XII: Etalonnage de la méthode de dosage	82
Tableau XIII: Répétabilité des solutions de référence de zidovudine	83
Tableau XIV: Répétabilité d'un échantillon de sirop à 0,2 mg /mL	84
Tableau XV : Répétabilité de l'ensemble de la procédure de dosage d'un échantillon de sirop	84
Tableau XVI : Répétabilité de l'ensemble de la procédure de dosage d'un échantillon de gélule.....	90
Tableau XVII : exactitude de la méthode.....	91
Tableau XVIII : Limite de détection de la Zidovudine.....	91
Tableau XIX : Limite de détection de la thymine.....	91
Tableau XX : Limite de détection de la stavudine.....	92
Tableau XXI: Résultat du dosage quantitatif des sirops.....	93
Tableau XXII : Résultat du dosage quantitatif des gélules.....	94
Tableau XXIII : dosage quantitatif en substances apparentées des sirops...	96
Tableau XXIV : résultats du contrôle microbiologique.....	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma des différents sites d'action des ARV disponibles.....	18
Figure 2 : Structure chimique de la zidovudine.....	29
Figure 3 : Structure chimique de l'impureté A ou Stavudine.....	32
Figure 4 : Structure chimique de l'impureté B.....	32
Figure 5 : Structure chimique de l'impureté C ou Thymine.....	33
Figure 6 : Taux moyen de régularité de masse des gélules.....	77
Figure 7: Cinétique de dissolution de Zidovudine USP, Retrovir® 6971 Retrovir® 4021	79
Figure 8 : Chromatogramme d'une solution de zidovudine à 0,200mg/mL.....	81
Figure 9 : Chromatogramme des substances apparentées standards.....	82
Figure10 : Chromatogramme d'un échantillon de sirop à 0,202mg/mL.....	83
Figure 11 : Chromatogramme d'un échantillon de gélule 0,202mg/mL.....	84
Figure 12 : Droite de régression de la gamme étalon de la zidovudine.....	86

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADN	: Acide Dexoxyribo Nucléique
ADN _{mt}	: Acide Dexoxyribo Nucléique mitochondriale
AFNOR	: Association Française de Normalisation
AFSSAPS	: Agence Française de Sécurité du Médicament et des Produits Sanitaires
AMT	: 3'-amino-3-deoxythymidine
ARN	: Acide Ribo Nucléique
ARV	: Antirétroviraux
AUC	: Aire sous la courbe
AZT	: Zidovudine
C	: Celsius
CCM	: Chromatographie sur couche mince
CD	: Classe de différenciation
CDC	: Center For Disease Control and prevention
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
CLHP	: Chromatographie Liquide Haute Performance
CPG	: Chromatographie en Phase Gaseuze
DPM	: Direction de la Pharmacie et du Médicament
DCI	: Dénomination Commune Internationale
DGAT	: Dénombrement des germes aérobies totaux
DMLT	: Dénombrement des moisissures et levures totaux
FDA	: Food and Drug administration
GSK	: Glaxo Smith Klin
HAART	: Highly Active Antiretroviral Treatment
HEKT	: Gélose Hecktoen
HTLV	: Human T-lymphotropic Virus
ICH	: International Convention of Harmonisation
INNRT	: Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Reverse Transcriptase
INRT	: Inhibiteurs Nucléosidiques de la Reverse Transcriptase
IR	: Infra rouge
IV	: Intra veineuse
LAV	: Lymphadenopathy Associated Virus

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

LCR	: Liquide Céphalo-rachidien
LNSP	: Laboratoire national de la santé publique
M	: Molarité
min	: Minute
mL	: Millilitre
mm	: Millimètre
N	: Normalité
NBS	: N-bromosuccinimide
NCI	: National cancer Institute
NF	: norme française
nm	: Nanomètre
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
ONUSIDA	: Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA
PCA	: Plate count agar
Ph	: Potentiel Hydrogène
ppm	: Partie Par Million
PSP	: Pharmacie de la Santé Publique
PV VIH	: personne vivant avec le VIH
RAC	: Milieu rapide <i>d'Escherichia coli</i>
Rf	: Rapport frontal
RT	: Reverse Transcriptase
RS	: Reference substance
SAC	: Sabouraud + chloramphénicol
SIDA	: Syndrome immunodéficitaire acquis
UFC	: Unité formant colonie
UFR	: Unité de Formation et de Recherche
UV	: Ultra Violet
VIH	: Virus d'Immunodéficience Humain
VRBG	: Gélose à la bile, au cristal violet et au glucose
VRBL	: Gélose à la bile, au cristal violet et au lactose

INTRODUCTION

Le Programme Commun des Nations Unies sur le VIH/sida (ONUSIDA) estimait, à environ 34,2 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH (PVVIH) dans le monde à la fin de l'année 2011[40]. L'Afrique sub-saharienne reste la région la plus durement touchée avec environ 22,9 millions de PVVIH en 2010 [39].

Près de 61% des adultes vivants avec le VIH de cette région sont des femmes [37].

La Côte d'Ivoire, selon l'ONUSIDA comptait en 2009, 450 000 personnes vivant avec le VIH avec une prévalence de 3,4% chez les adultes de 15 à 49 ans. [38]

La disponibilité des traitements antirétroviraux hautement actifs (HAART) a profondément modifié l'évolution de l'infection par le VIH. Ce traitement assure la restauration immunitaire ainsi que la réduction de la morbidité et de la mortalité induites par le VIH [25] ; Pour exemple 1,8 millions de personnes sont décédées en 2009 contre 2,1 millions en 2004.

Dans la mise en œuvre de la politique de prise en charge des personnes malades du sida, l'utilisation des génériques s'est imposée comme la solution de la stratégie thérapeutique.

La libéralisation de l'industrie pharmaceutique a permis la densification du marché d'approvisionnement en médicaments génériques. Mais l'on observe parallèlement le phénomène des médicaments de contrefaçon qui est de plus en plus présents sur le marché mondial.

En effet selon l'autorité fédérale de surveillance sanitaire des Etats-Unis (Food and Drug administration : FDA), les médicaments de contrefaçon représentent 10% du total des médicaments .Ces médicaments contrefaits se retrouvent aussi bien dans les pays développés que ceux en voie de développement.

Bien que les données exactes et définitives manquent encore, l'OMS estime pour sa part qu'un quart des médicaments utilisés dans les pays en voie de développement sont faux ou de qualité inférieure [61].

Ce contexte de suspicion mondial nous à emmener à avoir comme **objectif général** d'évaluer la qualité des médicaments à base de zidovudine utilisés en Côte d'Ivoire.

Notre choix s'est porté sur les sirops dosés à 50mg /5mL et gélules dosées à 100 mg

Les objectifs spécifiques définis pour notre étude sont :

- Identifier et doser la zidovudine par chromatographie liquide haute performance ou HPLC ;
- Rechercher et quantifier les substances apparentées de la zidovudine par HPLC
- Réaliser les tests galéniques, biogaléniques et microbiologiques selon les formes galéniques.

Ce mémoire sera structuré en deux parties :

- LA PREMIERE PARTIE, bibliographique concernera les généralités sur le VIH, la zidovudine, les substances apparentées et le contrôle qualité des médicaments.
- LA SECONDE PARTIE, expérimentale rend compte de notre méthodologie, rapporte nos résultats, présente la discussion et se termine par une conclusion et des recommandations.

Première Partie

REVUE DE LA LITTÉRATURE

I- VIH/SIDA

I-1. HISTORIQUE

En 1983, le Professeur Luc Montagnier de l'Institut Pasteur de Paris et son équipe de chercheurs isolent le VIH. C'est un rétrovirus humain dénommé à cette période LAV (Lymphadenopathy Associated Virus) [5,6].

L'année 1985 a vu la mise en évidence de l'activité antirétrovirale de la zidovudine (AZT) [16] et la mise sur le marché des premiers tests de dépistage du VIH. Au cours de cette même année, un second virus du Sida est découvert à l'Institut Pasteur. Il sera nommé VIH-2 et est majoritairement présent en Afrique de l'Ouest.

La première description du SIDA en Côte d'Ivoire remonte à cette même année 1985[13,14].

Au cours de l'année 1986, la communauté scientifique adopte les noms de HIV ou VIH (virus de l'Immunodéficience Acquise Humaine).qui vont remplacer ceux de LAV et HTLV 3. L'année suivante permet le lancement des campagnes de prévention pour l'usage du préservatif et la commercialisation de la zidovudine (AZT) en France.

I-2. SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE

I-2-1. REPARTITION GEOGRAPHIQUE DU VIH /SIDA

I-2-1-1. DANS LE MONDE

L'infection par le VIH constitue depuis son apparition une pandémie qui continue sa progression avec d'importantes disparités géographiques.

En Juillet 2012, selon les estimations de l'ONUSIDA, 34,2 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde à la fin de l'année 2011, dont 3,4 millions étaient des enfants d'âge inférieur à 15 ans [40]. Les femmes

représentaient 49% des adultes séropositifs [40]. Le nombre de nouvelles infections s'élevait à environ 2,2 millions de personnes dont 330 000 enfants. Environ 1,7 millions de décès ont été enregistrés dont 230 000 enfants [40].

I-2-1-2. EN AFRIQUE

Selon l'ONUSIDA, l'Afrique sub-saharienne demeure, de loin, la région du monde la plus touchée par la pandémie du VIH/sida. Dans son rapport publié en 2011, l'ONUSIDA estimait à environ 22,9 le nombre de PVVIH en Afrique sub-saharienne [39]. Le nombre de nouvelles infections et de décès était respectivement de 1,5 millions de personnes (dont 270 000 enfants) et de 1,2 millions de personnes en 2011 [40].

I-2-1-3. EN COTE D'IVOIRE

Les premiers cas ont été observés au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Treichville en 1985. Aujourd'hui, la Côte d'Ivoire est l'un des pays d'Afrique de l'ouest les plus touchés par la pandémie.

Dans son rapport de 2010, l'ONUSIDA estimait à 450 000 (380 000 adultes, 220 000 femmes et 63 000 enfants) le nombre de PVVIH, avec une prévalence estimée à 3,4%. Parmi ces malades, 36 000 avaient été déclarés décédés. [40].

I-2-2. MODE DE TRANSMISSION DU VIRUS

L'être humain représente le seul réservoir et l'hôte définitif connu pour le VIH. Ce virus a été isolé de la plupart des liquides biologiques humains tels que le sang, l'urine, le liquide céphalorachidien (LCR), le sperme, les sécrétions vaginales, le lait maternel, les larmes et la salive. Toutefois, la transmission du VIH nécessite une porte d'entrée. Il existe trois modes de transmission du VIH qui sont : la voie sexuelle, la voie sanguine et la voie materno-fœtale.

I-2-2-1. TRANSMISSION SEXUELLE

La transmission sexuelle est le mode de contamination le plus fréquent et représente 90% des cas de contaminations. Elle se fait par l'intermédiaire des rapports homosexuels et hétérosexuels avec une personne contaminée [7]. Les autres IST (Infection Sexuellement Transmissible) pouvant engendrer une altération de la muqueuse génitale favorisent également la transmission du virus.

I-2-2-2. TRANSMISSION PAR LE SANG ET SES DERIVES

La transmission sanguine se fait par l'intermédiaire des transfusions de sang ou de dérivés sanguins infectés, d'injections parentérales avec du matériel souillé, d'échanges ou de réutilisation d'aiguilles contaminées, de seringues préalablement utilisées chez des sujets infectés et qui n'ont pas été stérilisées. Les accidents professionnels avec des produits sanguins ou des objets contaminés par le VIH sont également à l'origine de contamination.

I-2-2-3. TRANSMISSION MERE ENFANT DU VIH

L'infection par le VIH chez l'enfant est, dans la très grande majorité des cas la conséquence d'une transmission du virus de la mère à l'enfant. En l'absence de prévention, le taux de transmission est estimé entre 14% et 42% [57 ; 12]. Les taux sont généralement plus élevés dans les pays en développement où les femmes allaitent leurs enfants au sein [15 ; 30].

Pour un taux de transmission global d'environ 35% sans prophylaxie, on considère, schématiquement que 10% des enfants sont infectés pendant la grossesse (au cours des dernières semaines), 15 % pendant le travail et 10% pendant l'allaitement au sein (ou plus, selon la durée de l'allaitement) [27].

I-2-3. AGENT PATHOGENE

Le VIH est l'agent causal du sida. Il appartient au groupe des rétrovirus, à la famille des RETROVIRIDAE et sous famille des LENTIVIRINAE. Les virus

de cette sous-famille engendrent une maladie à évolution lente avec persistance virale malgré la réponse immunitaire [10]. La structure vue au microscope électronique se présente sous la forme de particules sphérique de 90 à 120nm de diamètre.

Les Retroviridae possèdent une enzyme structurale appelée ADN-polymérase ARN-dépendante ou reverse transcriptase (RT) qui permet de synthétiser, à partir de l'ARN viral, un ADN bicaténaire [23 ; 50].

BASE PHYSIOPATHOLOGIQUE

Les cellules cibles du VIH sont le macrophage et essentiellement le lymphocyte T. Le virus s'attache à la membrane cellulaire de la cellule cible et fusionne avec elle. Il s'ensuit une transcription rétrograde de l'ARN en ADN. Cette transcription est possible grâce à la transcriptase reverse, enzyme caractéristique du virus. Les ARN et les protéines virales pénètrent alors dans le cytoplasme de la cellule. Puis, l'ARN viral libre (brin unique) grâce à la reverse transcriptase est retrotranscrit en ADN proviral (double brin) qui s'intègre dans le génome de la cellule cible par l'intermédiaire de l'intégrase virale. L'ADN viral formé est transcrit en ARN viral qui est ensuite traduit en protéines virales. Ensuite, les protéines virales synthétisées sont découpées par la protéase virale et vont s'assembler à des molécules d'ARN viral pour former de nouvelles particules virales infectieuses ou virions. Ces virions vont alors infecter d'autres cellules [4,6].

I-3.TRAITEMENT

I-3-1. OBJECTIFS DU TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL

■ Rendre indétectable la charge virale plasmatique en dessous du seuil de détection de la méthode utilisée (20 à 50 copies pour les méthodes ultrasensibles).

■ Restaurer l'immunité par l'augmentation du taux de lymphocytes T CD4/mm³ et l'amélioration de la fonctionnalité des lymphocytes T CD4 confirmant ainsi l'efficacité du traitement. [20]

Les conséquences cliniques du traitement antirétroviral sont :

- * l'amélioration de la qualité de vie ;
- * l'accroissement de la durée de vie ;
- * la diminution du nombre d'hospitalisations et de décès du fait de la réduction significative de la fréquence des infections opportunistes.

I-3-2. MEDICAMENTS ANTIRETROVIRAUX

Les ARV constituent un groupe de médicaments anti-infectieux, antiviraux, actifs sur les virus du SIDA (VIH-1 et VIH-2). Ce sont des substances essentiellement virostatiques agissant par inhibition enzymatique.

Les différents groupes de médicaments antirétroviraux sont : les inhibiteurs de la reverse transcriptase, les inhibiteurs de la protéase, les inhibiteurs de fusion ou d'entrée, Les inhibiteurs du CCR5, Les inhibiteurs de l'intégrase.

I-3-2-1. LES INHIBITEURS DE LA REVERSE TRANSCRIPTASE (RT)

Les inhibiteurs de la transcriptase inverse représentent la première classe d'antirétroviraux à démontrer une activité chez les patients infectés par le VIH.

Ils agissent au stade précoce de la réplication virale du VIH-1 pour tous et du VIH-2 pour certains. Ils sont actifs sur les cellules récemment infectées, activées ou en voie de l'être en bloquant la transformation de l'ARN viral en ADN par inhibition de la transcriptase inverse. Cette classe thérapeutique est subdivisée en plusieurs sous-groupes :

➤ **Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) :**

Ce sont des pro drogues : ils doivent être triphosphorylés par des enzymes cellulaires avant d'être actifs. Sous cette forme triphosphate, ils inhibent l'action de la transcriptase inverse par inhibition de l'élongation de l'ADN viral en se substituant aux nucléotides normaux.

Ils sont représentés par :

Zidovudine (AZT/ Retrovir®)	Zalcitabine (ddC/ Hivid®)
Lamivudine (3TC/ Epivir®)	Abacavir (ABC/ Ziagen®)
Stavudine (d4T/ Zerit®)	Didanosine (ddI/ Videx®)

➤ **Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI):**

Ils sont directement actifs sans transformation en se liant à la transcriptase inverse. Ils sont inactifs sur VIH-2 mais spécifiquement actifs sur VIH-1.

Ils sont représentés par :

Nevirapine (Viramune ®)	Efavirenz (Stocrin ®)
Delavirdine (Rescriptor ®)	

➤ **Inhibiteur nucléotidique,**

Tenofovir disoproxil fumarate (TDF)

I-3-2-2. INHIBITEURS DE LA PROTEASE (IP)

Les inhibiteurs de la protéase agissent au stade tardif de la réplication virale par l'inhibition de la protéase, l'enzyme de clivage de la longue chaîne des polypeptides (précurseurs produits par les gènes gag et pol). Cette inhibition aboutit à la formation de particules virales immatures, défectueuses et donc incapables d'infecter d'autres cellules.

Ils sont donc actifs sur les cellules déjà infectées contrairement aux inhibiteurs de la transcriptase reverse.

Ils sont représentés par :

Saquinavir (Invirase ®)	Ritonavir (Norvir ®)
Indinavir (Crixivan ®)	Nelfinavir (Viracept ®)
Amprenavir (Agénérase ®)	Lopinavir/Ritonavir (Kaletra ®)

I-3-2-3. INHIBITEURS DE FUSION ET D'ENTREE DU VIH

C'est une classe de médicament ARV intervenant au tout début du cycle de réplication du virus. Ils agissent en perturbant la phase de fusion-lyse.

Ils sont représentés par :

Enfuvirtide (Fuzeon®) : qui est un inhibiteur de fusion qui se lie à la glycoprotéine d'enveloppe gp41 du VIH-1

Maraviroc (Celsentri®) : qui est un antagoniste des co-récepteurs CCR5 des macrophages

I-3-2-4. INHIBITEURS DE L'INTEGRASE

Ils bloquent l'action de l'intégrase, enzyme essentielle à la réplication du virus. En ciblant cette enzyme, ils limitent la capacité du virus à se répliquer et à infecter de nouvelles cellules.

Ils sont représentés par :

Raltégravir (Isentress®)	Elvitegravir (avec pour code G59137)
--------------------------	--------------------------------------

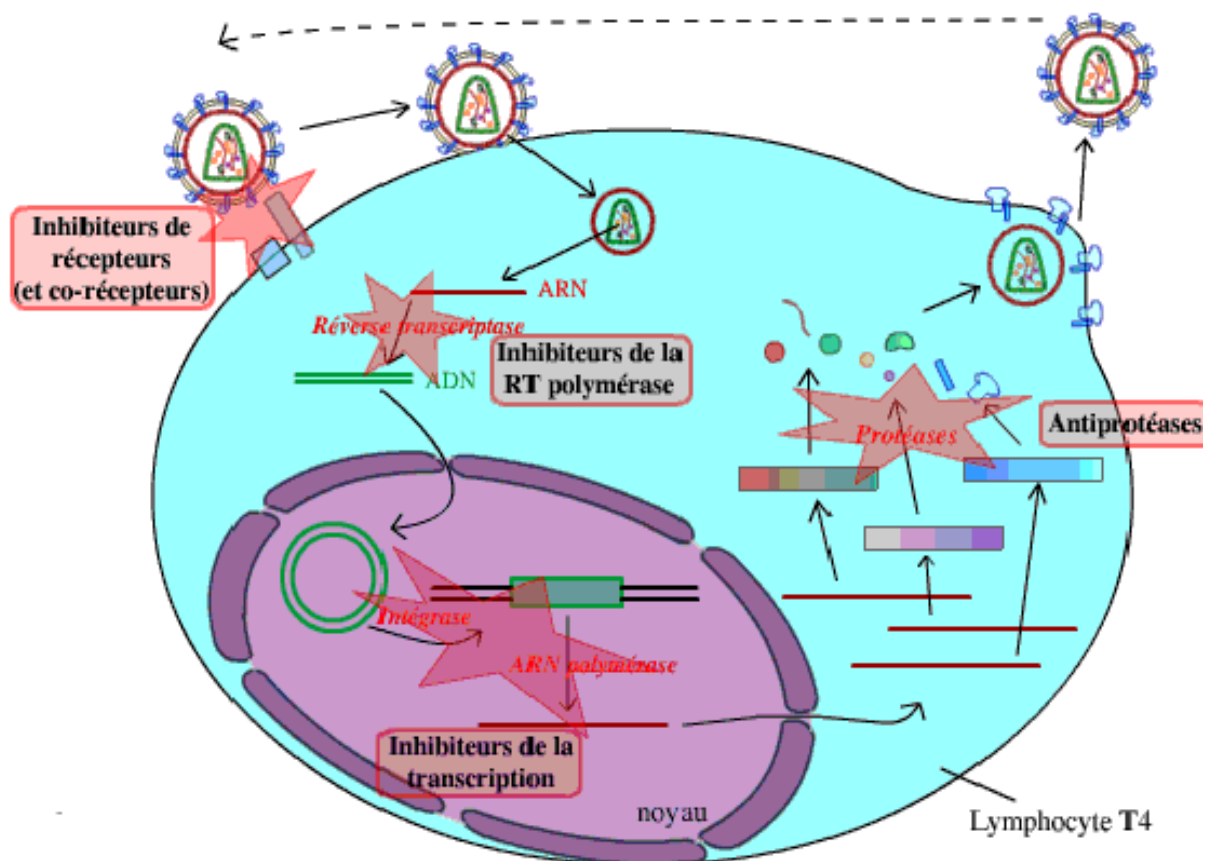


Figure 1 : Schéma des différents sites d'actions des antirétroviraux disponibles [17]

I-3-3. CRITERES D'ELIGIBILITE AU TRAITEMENT

En s'appuyant sur les recommandations de l'OMS, la Côte d'Ivoire a établi des critères d'éligibilité au traitement [21]. Peuvent donc commencer le traitement antirétroviral, tout patient,

- asymptomatiques (OMS 1, CDC A) ou Stades cliniques OMS 2-3 ou CDC B, ayant un nombre de lymphocytes T CD4 inférieur ou égale à 350 cellules/mL;
 - Symptomatiques (OMS 4 ou CDC C) quelque soit la valeur des CD4.
 - **Enfants de plus de 18 mois :**
 - Stade 3 de l'OMS ou stade C du CDC quels que soit le taux de lymphocytes T CD4.
- Stade 1 ou 2 de l'OMS ou stade A ou B du CDC et le taux de lymphocytes T CD4 < 15%
- **Enfant de moins de 18 mois :**
 - Stade 3 de l'OMS ou stade C du CDC quels que soient les lymphocytes T CD4.
- Stade 1 ou 2 de l'OMS ou stade A ou B du CDC et taux de lymphocytes T CD4 < 20%

I-3-4. PROTOCOLE THERAPEUTIQUE

Le tableau I résume les schémas thérapeutiques adoptés par le ministère de la santé et de la lutte contre le sida en Mai 2012 [11].

TABLEAU I: Schéma thérapeutique utilisé depuis Mai 2012 chez l'adulte et l'enfant sans particularités.

Indication	Première ligne		Deuxième ligne	
Sérotypage	VIH-1	VIH-2 ou à VIH Dual (VIH 1+2)	VIH-1	VIH-2 ou VIH Dual (VIH 1+2)
Adultes sans particularités	AZT+3TC+NVP	AZT+3TC+LPV/RTV	TDF+3TC+LPV/RTV	Réservé au centre de référence
Enfants sans particularités	AZT+3TC+NVP	AZT+3TC+LPV/RTV	ABC+3TC+LPV/RTV	Réservé au centre de référence

NB : Recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé dans les pays en développement concernant la prévention mère-enfant

Les recommandations de l'OMS pour la prévention de la transmission du VIH de la mère à l'enfant sont schématiquement les suivantes [3] :

Pour les femmes qui ont besoin d'un traitement antirétroviral compte tenu de leur état de santé (toutes les femmes au stade clinique 4 ; les femmes au stade clinique 3 avec un nombre de lymphocytes T CD4 < 350 cellules/mm³ si disponible, sinon toutes les femmes au stade clinique 3 ; les femmes au stade 1 et 2 avec un nombre de lymphocytes T CD4 < 200 cellules/mm³) : une combinaison antirétrovirale par zidovudine, lamivudine et névirapine, dès que possible en cours de grossesse . L'enfant reçoit de la zidovudine pendant 7 jours.

Pour les femmes enceintes qui ne répondent pas aux indications du traitement antirétroviral ou qui n'y ont pas accès : une monothérapie de zidovudine dès la

28^{ème} semaine de grossesse (ou le plus rapidement possible après), une dose unique de névirapine pendant le travail, suivie d'une combinaison de zidovudine et lamivudine pendant 7 jours après la grossesse, pour éviter la sélection de mutation de résistance à la névirapine. Pour le nourrisson, une dose unique de névirapine et un traitement de zidovudine pendant une semaine sont recommandés.

Si les femmes reçoivent un traitement pendant moins de 4 semaines, le traitement de zidovudine chez l'enfant doit être prolongé jusqu'à 4 semaines.

Quel que soit l'état immunologique et clinique des mères, la zidovudine seule ou en association avec d'autres antirétroviraux, est le traitement de choix pour la prévention de la transmission mère-enfant du VIH.

I-3-5. RESISTANCES AUX ANTIRETROVIRAUX

I-3-5-1. DEFINITION

La résistance correspond à l'aptitude d'une souche de VIH à survivre et même à se reproduire en présence d'antirétroviraux alors que ceux-ci devraient normalement les détruire ou empêcher leur multiplication.

I-3-5-2. TYPES DE RESISTANCE

Deux types de résistances sont clairement définis :

***La résistance phénotypique** consiste en une diminution de la sensibilité du VIH au médicament utilisé. Le médicament n'est donc plus efficace car le virus effectue une ou des mutations qui le rendent en partie insensible au médicament.

***La résistance génotypique** concerne les gènes proprement dits. Elle décrit la mutation d'un gène spécifique et s'exprime par la résistance phénotypique.

I-3-5-3. STRATEGIES POUR EVITER LA RESISTANCE

Le seul moyen d'éviter l'apparition de la résistance est d'empêcher le virus de se reproduire et de faire l'objet de mutation. Pour cela il faut déterminer l'association de médicaments qui produit l'effet le plus puissant, la prendre aux doses les plus élevées possibles et respecter strictement les posologies.

I-3-6. DISTRIBUTION ET QUALITE DES ARV EN COTE D'IVOIRE

I-3-6-1. CIRCUIT DE DISTRIBUTION

L'ONUSIDA a été à l'origine de plusieurs initiatives d'accès aux ARV. En novembre 1997, une initiative d'accès aux médicaments (Drug Access initiative) se met en place dans quatre pays dont la Côte d'Ivoire. Cette initiative a été suivie d'un programme plus large qui permettra progressivement à une quinzaine de pays de conclure un accord avec l'industrie pharmaceutique pour la fourniture d'ARV à des prix réduits, dans le cadre de programmes nationaux[45]. L'entrée des génériques ARV dans le débat contribua fortement à la baisse du prix des ARV jusqu' à leur totale gratuité en Août 2008 en Côte d'Ivoire [53].

Depuis 1999 jusqu'à ce jour, la gestion des ARV est confiée à la PSP. Elle est donc la seule structure habilitée à s'approvisionner auprès des firmes pharmaceutiques par appel d'offre international auprès de laboratoires ou firmes préqualifiées par L'OMS.

La PSP ravitaille donc tous les sites de prise en charge sur l'étendue du territoire national. Ces sites assurent la prescription, la gestion des médicaments et sont les lieux où les malades peuvent s'approvisionner.

I-3-6-2. QUALITE DES ARV

Selon l'Unicef les normes d'assurance qualité concernant les ARV sont limitées ou pratiquement inexistantes officiellement. De strictes directives sont

alors suivies pour la recherche d'une source d'approvisionnement en médicaments ARV (qui sont à 80% des génériques) [53]. Leur qualité fera l'objet d'une évaluation et d'un suivi dans le cadre du système de pré qualification de l'OMS. Le projet de préqualification mené par l'OMS évalue les produits pharmaceutiques en fonction des normes de qualité et du respect des BPF (Bonne Pratique de Fabrication). Le programme de préqualification OMS représente une avancée considérable dans la lutte contre les médicaments de mauvaise qualité, et permet aux plus petites structures qui n'ont pas les moyens de préqualifier eux-mêmes leurs fournisseurs, de réaliser des approvisionnements de qualité à partir d'une liste de couples « produit/fabricant » répondant aux spécifications de l'OMS [24].

Cependant il revient à chaque pays dans un souci de suivie de la qualité de procéder à une évaluation technique du produit entrant sur son territoire [58].

En Côte d'Ivoire la DPM assure le maintien de la qualité des ARV.

Le processus de contrôle qualité des ARV effectué par le LNSP est le suivant :

- ✓ Prélèvement des échantillons au niveau du site de stockage
- ✓ Contrôle technique :
 - Inspection physique et visuelle,
 - Identification, dosage du principe actif et recherche des substances apparentées,
 - Essais pharmaco techniques,
 - Restitution des résultats de contrôle à la DPM.

Lors de nos travaux nous avons jugé utile de compléter ce contrôle par un élément aussi important qu'est le dosage des impuretés, notion qui montre de plus en plus son caractère indispensable quand à la sécurité d'un produit.

En effet un contrôle de l'Agence Française de la Sécurité du médicament et des Produits de Santé (AFSSAPS) qui a conduit au retrait de lot de Viracept® (nelfinavir mesylate) avait détecté par dosage HPLC dans le produit fini des

taux de mesylates d'alkyles et de méthane sulfonate (tératogène) ; alors que la Pharmacopée Européenne dans la monographie sur les mesylates stipule qu'ils ne doivent pas être détectables dans le produit final [46].

II- ZIDOVUDINE

II-1. HISTORIQUE

Jérôme HORWITZ du *Barbara Ann Karmanos Cancer Institute* synthétisa les premières molécules d'AZT en 1964. L'AZT était au début prévue pour traiter le cancer mais n'a pas montré d'efficacité.

En février 1985, Samuel BRODER, Hiroaki MITSUYA, et Robert YARCHOAN, trois chercheurs démontrèrent que cette substance avait une efficacité sur l'activité de la retrotranscriptase du VIH in vitro, l'équipe conduisit alors le premier essai clinique qui put montrer que l'AZT augmentait le nombre de lymphocytes T CD4 chez les malades du Sida.

La Food Drug Administration (FDA) approuva la substance pour être utilisée contre le VIH et le SIDA le 20 mars 1987, puis comme traitement préventif en 1990.

Le dosage initialement utilisé était 2400mg/jour mais en raison de sa toxicité et de la découverte de nouvelles molécules, les posologies ont été réduites à environ 600 mg/jour.

Depuis 1996, l'AZT est utilisée dans la prévention de la transmission mère enfant du VIH [45].

II-2. STRUCTURE CHIMIQUE

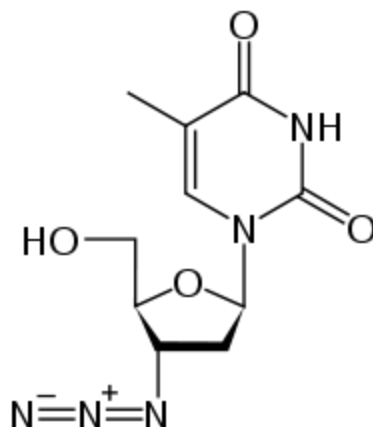


Figure 2 : Structure chimique de la zidovudine [43]

La zidovudine est 1-(3-azido-2,3-didésoxy-β-D-érythro-pentofuranosyl)-5-méthylpyrimidine-2,4(1*H*, 3*H*)-dione.

Sa formule brute est $C_{10}H_{13}N_5O_4$ et sa masse moléculaire est de 267,2 g/mol [43].

II-3. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

La zidovudine est une poudre blanche ou brunâtre, inodore, assez soluble dans l'eau, et soluble dans le méthanol anhydre et le chloroforme. Il est soluble dans l'acide chlorhydrique dilué [43].

La zidovudine présente le phénomène de polymorphisme.

II-4. CRITERES D'IDENTIFICATION DE LA ZIDOVUDINE

Point de fusion :

Le point de fusion de la zidovudine est de 124°C [43].

Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge :

Nous avons des bandes d'absorption caractéristiques de la zidovudine [43].

II-5. ESSAI

Pouvoir rotatoire spécifique : dissoudre 0,50 g de zidovudine dans l'éthanol anhydre R et compléter à 50 mL avec le même solvant. L'angle de rotation est de **+ 60,5 à + 63,0 [43]**.

Recherche de substances apparentées

Elle est réalisée par :

- ✓ Chromatographie sur couche mince : sur plaque de gel de silice. la phase mobile est un mélange méthanol R 10 volumes et du chlorure de méthylène R 90 volumes.
- ✓ Chromatographie liquide : elle est réalisée sur colonne C18. La phase stationnaire est un gel de silice octadecylsilylé. La phase mobile quant à elle est un mélange méthanol R, eau R (20 :80V/V).

Recherche des métaux lourds : recherche de plomb.

Perte à la dessiccation : la perte à la dessiccation n'est pas supérieure à 1 pour cent déterminé à l'étuve à 105°C sur 1,0 g de zidovudine.

II-6. DOSAGE

II-6-1. METHODE SPECTROPHOTOMETRIQUE D'ABSORPTION DANS L'UV [45]

Transférer 0,05g de zidovudine dans une fiole de 250 mL. Ajouter 200 mL d'un mélange de 20 volumes de méthanol et 80 volumes d'eau et faire la dissolution aux ultra-sons. Compléter au volume avec le même solvant et mélanger. Diluer 5 mL de cette solution à 50 mL avec l'acide sulfurique (0,1mol/l) et mélanger.

Préparer le blanc en utilisant 5 mL d'une solution contenant 20 volumes de méthanol et 80 volumes d'eau diluée dans 50 mL d'acide sulfurique (0,1 mol/l). mesurer l'absorbance à 267 nm de la solution de zidovudine

II-6-2. METHODES CHROMATOGRAPHIQUES

➤ Dans les formes pharmaceutiques

Une phase mobile constituée par un mélange de 70 volumes de tampon dihydrogène phosphate de potassium (M/15) avec 1% d'acide heptane sulfonique-1 à 0,25 M et 30 volumes d'acétonitrile. Le débit est à 1 mL/mn et la détection se fait dans l'UV à 260 nm. La phase stationnaire est une colonne C18 [36].

III- CONTROLE QUALITE

Le contrôle qualité des médicaments porte sur le contrôle des caractères généraux, les contrôles galéniques et biogaléniques, le contrôle analytique et le contrôle microbiologique.

III-1. DEFINITIONS

III-1.1 DEFINITION DE LA QUALITE

Selon l'ICH (International Convention of Harmonisation), **Qualité - Sécurité – Efficacité** sont ces critères complémentaires qui peuvent difficilement être dissociés et qui expriment la qualité au sens large du terme des médicaments [21].

Pour l'OMS, la qualité du médicament est déterminée par son efficacité et son innocuité, en accord avec ce qui est indiqué sur l'étiquette et par la conformité aux spécifications concernant son identité, sa pureté et d'autres caractéristiques [60]. La qualité dépend entre autres : des matières premières, des principes actifs, des excipients, de la fabrication, du conditionnement, de la validation des procédures analytiques et de la stabilité.

Ainsi, les médicaments non conformes sont « des produits dont la composition et les principes ne répondent pas aux normes scientifiques et qui sont par conséquent inefficaces et souvent dangereux pour le patient » [60].

Les trois moyens disponibles pour l'évaluation des médicaments par les pays en développement ou les associations humanitaires sont :

- le contrôle qualité du médicament,
- l'audit du fabricant,
- l'enregistrement du médicament dans le pays de fabrication et dans le pays d'importation [24].

Nous nous intéresserons qu'au contrôle qualité dans notre thèse.

III-1-2. DEFINITION DU CONTROLE QUALITE [46]

Le contrôle qualité consiste à vérifier régulièrement le niveau de la qualité des fabrications. Il se matérialise, dans le cas des structures importantes de fabrication, par l'acceptation ou le refus des matières premières, des produits semi – finis et finis, l'estimation de la stabilité des fabrications, l'examen des produits retournés et la surveillance des échantillons. Le contrôle qualité se déroule en plusieurs étapes

III-2.CONTROLE DES CARACTERES GENERAUX [31]

Les diagnoses effectuées sur le contenu des divers emballages d'un même lot de réception ont pour but de s'assurer, par des méthodes suffisamment spécifiques, qu'il s'agit de la substance annoncée par l'étiquette.

Ces méthodes doivent être simples et d'une rapidité compatible avec un travail en série.

Une première série d'opérations de contrôle permet de s'assurer que le lot reçu n'a pas été l'objet d'erreur grossière d'étiquetage lors de la manutention. Ce sont :

- ✓ la vérification du libellé exact de toutes les étiquettes et des inscriptions apposées sur les divers emballages,
- ✓ l'examen des caractères organoleptiques (forme, aspect, couleur, odeur).

III-2-1. CONTROLE DE L'ETIQUETAGE

Les indications suivantes doivent figurer en caractère suffisamment lisible sur les récipients et sur le conditionnement de la spécialité. Il s'agit de [31] :

- la dénomination commune internationale (DCI) du ou des principes actifs, en caractère très apparent immédiatement en dessous du nom de fantaisie lorsque la dénomination est un nom de fantaisie ;
- la forme pharmaceutique sur l'emballage extérieur ;

- la composition quantitative et qualitative des principes actifs par unité de prise ou par volume ou un poids déterminé, en utilisant les DCI ou celle de la Pharmacopée Européenne ou française ;
- le mode d'administration ;
- la date limite d'utilisation clairement mentionnée accompagnée, chaque fois que cela est nécessaire, de la mention précisant la date de validité lorsque le conditionnement est intact ou lorsque les conditions de conservation sont respectées ;
- le nom et l'adresse et du fabricant ;
- le numéro du lot de fabrication
- le nombre d'unité de prise ou à défaut la contenance du récipient sur l'emballage extérieur ;
- les précautions de conservation ;

Lorsque le principe actif appartient à une liste de substances vénéneuses (liste I, liste II ou produits stupéfiants), il faut veiller à ce que l'étiquette soit conforme à la législation concernant la liste.

Une notice doit être jointe au conditionnement si les précautions suivantes (la voie d'administration, la durée du traitement, la posologie usuelle) ne sont pas portées sur l'étiquette du récipient de conditionnement.

Sauf décision contraire des autorités compétentes, les indications thérapeutiques, les contre indications, les effets indésirables et les précautions particulières d'emploi doivent figurer sur la notice [31].

III-2-2. CONTROLE DES CARACTERES ORGANOLEPTIQUES [48]

Le contrôle des caractères organoleptiques porte sur l'aspect, la couleur, l'odeur et la saveur de la suspension buvable de zidovudine et des gélules de zidovudine.

III-2-2-1. ASPECT

L'aspect sera déterminé en examinant la limpidité et la fluidité des liquides, l'homogénéité des poudres et des produits pâteux, la forme et la dimension des cristaux pour les solides.

III-2-2-2 COULEUR

L'examen de la couleur est nécessaire. En effet, certains produits altérés peuvent être de couleur différente.

III-2-2-3. ODEUR

Elle est souvent caractéristique pour les préparations d'origine naturelle. Une odeur anormale permet de déceler une souillure, une altération ou une contamination.

III-2-2-4. SAVEUR

Le contrôle de la saveur doit être pratiqué avec discernement surtout dans le cas des produits toxiques, à goût très prononcé.

III-3. CONTROLE GALENIQUE ET BIOGALENIQUE

III-3-1. CONTROLE GALENIQUE

Les médicaments, après leur fabrication, subissent une série de test afin d'évaluer certaines qualités très importantes. Ces tests sont réalisés sur des unités choisies de manière aléatoire.

L'utilisation du lot des médicaments dépend des résultats obtenus.

LE TEST DE REGULARITE DE MASSE [41]

Il consiste à peser individuellement vingt unités d'un même lot prélevées au hasard et à déterminer la masse moyenne.

Dans le cas des capsules, il faut peser d'abord la capsule pleine, ensuite l'ouvrir et la vider aussi complètement que possible, puis peser ensuite l'enveloppe vide et calculer la masse du contenu par différence.

Tableau II : Régularité de masse des gélules, capsules.

Forme pharmaceutique	Masse moyenne	Ecart limite de la masse moyenne en %
Capsules, granulés non enrobé et poudre (en unidose)	Moins de 300 mg	10
	300 mg ou plus	7,5

La masse individuelle de 2 au plus des 20 unités peut s'écarter de la masse moyenne du pourcentage indiqué dans le tableau ci-dessus mais la masse d'aucune unité ne doit s'écarter de plus du double de ce pourcentage.

III-3-2. CONTROLE BIOGALENIQUES

Les tests biogaléniques comprennent le test de délitement et le test de dissolution.

III-3-2-1. TEST DE DELITEMENT

Selon le Codex, le délitement est l'étape qui précède la dissolution du principe actif contenu dans le comprimé.

L'intérêt de ce test est de savoir si le comprimé peut se désagréger dans le tractus gastro-intestinal dans un laps de temps convenable.

➤ Conditions opératoires :

- **Appareillage**

Le delitest se compose de six tubes verticaux solidaires les uns des autres et limités à leur partie inférieure par une grille.

- **Protocole**

Dans chaque tube est placée une gélule et un disque cylindrique plastique. L'ensemble est immergé dans un bêcher d'un litre et subit des mouvements verticaux à la température de $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

La désagréation est atteinte lorsqu'il n'y a plus de résidu sur la grille ou s'il subsiste un résidu, il est constitué seulement par une masse molle ne comportant pas de noyau palpable ou par des fragments d'enrobage.

- **Valeurs normales**

La pharmacopée française recommande six gélules. Le temps limite de délitement exigé doit être inférieure à 30 minutes.

V-3-2-2. TEST DE DISSOLUTION

- **Principe**

Le principe consiste à mesurer la cinétique de dissolution d'un principe actif dans un milieu donné à partir de sa forme galénique.

- **Conditions opératoires**

- **Température**

Les études cinétiques s'effectuent actuellement à $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

- **Milieu de dissolution**

- Eau distillée

Lorsque la solubilité du principe actif varie peu en fonction du pH, on utilise l'eau pure ce qui simplifie le dosage.

Solutions ioniques

Elles sont largement utilisées afin de se rapprocher des conditions de pH rencontrées dans l'organisme :

- Les solutions acides à pH 1,2 :
- Les solutions tampons alcalines de pH compris entre 7 et 8 :
- Les solutions tampons de pH intermédiaire compris entre 4 et 6 :

Liquides gastrique et intestinal

Ces termes désignent des solutions acides ou alcalines qui sont sensiblement proches des sucs physiologiques par addition d'enzymes et éventuellement de sels biliaires.

➤ Appareillage

Il existe de nombreux appareils de dissolution : l'appareil à palettes tournantes, l'appareil à panier rotatif, l'appareil de LEVY- HAYES (méthode du bêcher), l'appareil de dialyse, l'appareil à flux continu, etc.

Les conditions opératoires doivent être précisées.

Le principe actif est ensuite dosé par une méthode analytique appropriée.

IV-3-2-3. VALEURS NORMALES

Elles varient selon la nature de la forme galénique et le type d'action attendue.

Pour les formes de libération immédiate, la vitesse de dissolution du principe actif devra être la plus rapide possible. Ainsi, 75% du principe actif doit être dissous en moins de 45 minutes [56].

III-4. CONTROLE ANALYTIQUE [47]

Le choix d'une méthode repose sur sa spécificité et sa sensibilité.

III-4-1.METHODES D'IDENTIFICATION DU PRINCIPE ACTIF [46]

III-4-1-1. METHODES SPECTRALES

Lorsqu'une molécule absorbe dans l'ultra – Violet, dans le visible, ou dans l'Infrarouge, elle devra présenter le spectre attendu dans un solvant défini et par conséquent posséder une ou plusieurs bandes d'absorption dont le maximum correspond à la longueur d'onde indiquée dans la monographie, caractéristique du composé.

III-4-1-2. METHODES CHROMATOGRAPHIQUES

La chromatographie sur couche mince est une méthode spécifique et très sensible, largement utilisée pour l'identification des molécules. Il s'agit de comparer le déplacement d'un échantillon à analyser en solution dans un solvant volatil et d'un produit de référence chromatographié en même temps.

Dans la monographie de la pharmacopée sont indiquées des valeurs du rapport frontal (Rf) approximatives, mentionnées à titre indicatif car la migration doit toujours être effectuée en parallèle avec un témoin.

La chromatographie liquide haute performance est aussi utilisée pour identifier les principes actifs et les substances apparentées.

III-4-1-3. REACTIONS COLOREES

A côté de ces techniques physiques d'identification des principes actifs, la pharmacopée décrit des réactions colorées d'identité des ions et des groupements fonctionnels.

Le principal inconvénient réside dans la préparation de nombreux réactifs nécessaires et en la complexité de certaines réactions.

III-4-2. RECHERCHE DES IMPURETES [47]

Certaines impuretés spécifiques à chaque matière première peuvent être recherchées. Ce sont par exemple les impuretés de fabrication et de dégradation. Dans chaque monographie ou dans chaque dossier technique, des essais particuliers pourront donc être indiqués ainsi que leurs résultats.

III-4-2-1. DEFINITION

On appelle impureté dans une substance pour usage pharmaceutique, tout composant autre que l'entité chimique définie comme étant la substance [41]. Les composants inorganiques, organiques, biochimiques isométriques ou polymères peuvent tous être considérés comme des impuretés [59].

III-4-2-2. CLASSIFICATION DES IMPURETES [59]

III-4-2-2-1. IMPURETES ORGANIQUES

On distingue dans ce groupe les substances apparentées et les autres impuretés de type organique. Les substances apparentées sont des impuretés qui sont déclarées, identifiées chaque fois qu'il est possible et qualifiées. Lorsque l'on suspecte ces substances apparentées d'être très active ou d'avoir des effets toxiques ou pharmacologiques inattendus, des seuils spécifiques leurs sont appliqués. Des seuils spécifiques ont donc été appliqués à trois substances apparentées à notre molécule d'étude [43] :

L'impureté A ou Stavudine

L'impureté B

L'impureté C ou Thymine

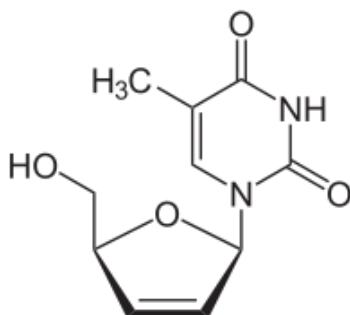


Figure 3 : Structure chimique de l'impureté A ou STAVUDINE

Impureté A ou stavudine : 1-[(2R, 5S)-5-(hydroxyméthyl)-2,5-dihydrofuran-2-yl]-5-méthylpyrimidine-2,4(1H, 3H)-dione

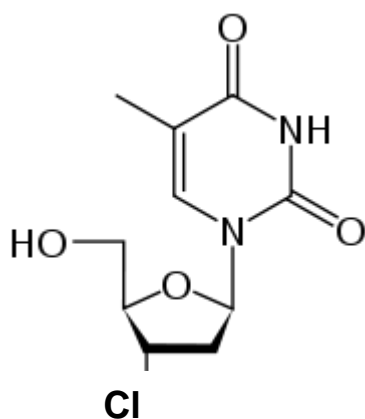
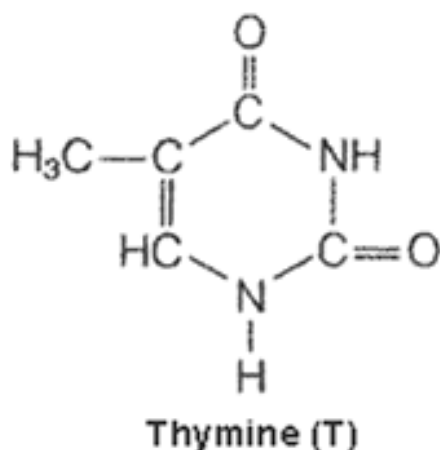


Figure 4 : Structure chimique de l'impureté B

Impureté B : 1-(3-chloro-2,3-didésoxy-β-D-érythro-pentofuranosyl)-5-méthylpyrimidine-2,4(1H, 3H)-dione



5-methylpyrimidine-2, 4(1*H*, 3*H*)-dione

Figure 5 : Structure chimique de L'impureté C ou THYMINE

Les autres impuretés organiques sont des impuretés potentielles et des impuretés connexes.

Les impuretés potentielles sont des impuretés théoriquement susceptibles d'apparaître lors de la fabrication et peuvent ou non être effectivement présentes dans la substance.

Les substances connexes s'apparentent d'une manière structurale aux substances pharmaceutiques. Ces substances peuvent être des impuretés identifiées ou non identifiées provenant de procédé de fabrication par synthèse tels que les produits intermédiaires ou les sous-produits ; ces substances ne se multiplient pas pendant la conservation. Ces impuretés organiques peuvent être détectées par les essais de la monographie.

III-4-2-2-2. IMPURETES INORGANIQUES

Les impuretés inorganiques peuvent provenir du procédé de fabrication (exemple : métaux résiduels, sels minéraux etc....)

Les impuretés inorganiques sont typiquement contrôlées par essais comme Les métaux lourds. La chromatographie ionique est beaucoup plus adaptée pour cette recherche.

III-4-2-2-3. PRODUITS DE DEGRADATION

Ce sont des produits de dégradation identifiés ou non identifiés qui résultent des procédés de fabrication des substances ou de produits pharmaceutiques ou qui surviennent pendant le stockage ou la conservation d'une matière.

Ils sont classés en :

-Produits de dégradation identifiés ou Impuretés identifiées

Ce sont des impuretés ou produits de dégradation pour lesquels on a réalisé des caractérisations structurales.

- produits de dégradation non identifiés ou impuretés non identifiées

Ce sont Les impuretés ou produits de dégradation pour lesquels des caractérisations structurales n'ont pas été réalisées et qui sont identifiés uniquement par propriétés analytiques qualitatives (ex temps de rétention chromatographique)

- les produits de dégradations non spécifiés ou les impuretés non spécifiées

Ce sont des impuretés ou produits de dégradation qui sont restreints, limités par des critères d'acceptation généraux mais qui ne sont pas inscrits individuellement avec leurs critères d'acceptation spécifiques dans des monographies individuelles.

III-4-2-2-4. SOLVANTS RESIDUELS

La réalisation d'un essai des solvants résiduels doit être effectuée chaque fois qu'il est connu que le procédé de fabrication ou de purification entraînent la rémanence de tels solvants. Des taux de solvants résiduels élevés sont toutefois admissibles dans certains cas, par exemple pour des traitements à court terme ou des applications locales. Les solvants résiduels sont subdivisés en trois classes en fonction de l'évaluation du risque :

Classe 1 : solvants à éviter

Ce sont des carcinogènes humains ou fortement suspectés dangereux pour l'environnement, les solvants de la classe 1 ne doivent pas être utilisés dans la fabrication de principe actif, d'excipient et de médicament en raison du caractère inacceptable de leur toxicité.

Tableau III : Exemple de solvants de classe 1

Solvant	Limite de concentration (ppm)	Risques
Benzène	2	Carcinogène
Tétrachlorure de carbone	4	Toxique et dangereux pour l'environnement
1, 2, dichloroéthane	5	Toxique
1,1 dichloroéthane	8	Toxique
1, 1,1-trichloroéthane	1500	Dangereux pour l'environnement

Classe 2 : solvants dont l'utilisation est limitée

Leur présence dans les produits à usage pharmaceutique doit être limitée en raison de leur toxicité intrinsèque telle que la neurotoxicité ou la tératogénicité. Les expositions journalières admissibles et les concentrations sont respectivement indiquées à 0,1 mg/jr et à 10 ppm près. Exemple, l'acétonitrile, chlorobenzène, méthanol, formamide, tétra hydro furane etc.

Classe 3 : solvants à faible potentiel toxique

La classe 3 ne contient aucun solvant connu, pouvant présenter des risques pour la santé dans le respect des limites autorisées. La limite admissible pour les produits à usage pharmaceutique est <50mg/jour c'est à dire <5000ppm/jour. Exemple, diméthylsulfoxyde, acide acétique, heptane, éther éthylique etc. [59]

III-4-2-3. CONSEQUENCES DES IMPURETES

III-4-2-3-1. SUR LA TOXICITE DU PRODUIT FINI [52]

Les impuretés présentes dans la matière première peuvent avoir une incidence sur la toxicité et la stabilité du médicament. Les impuretés peuvent être de type :

- Substances apparentées (apparaissant pendant la synthèse).
- Solvants résiduels.
- Métaux lourds.
- Produits de dégradation (apparaissant après la synthèse).

Les substances apparentées

Elles apparaissant pendant la synthèse du principe actif, et devraient être identifiées et qualifiées sur le plan toxicologique. Elles peuvent comprendre les produits de départ et leurs impuretés, des produits de réactions secondaires d'isomérisation.

Les solvants résiduels

Ils ont servi à la recristallisation du produit et se répartissent en plusieurs classes :

- classe 1 dit toxiques à éviter : benzène, dichloroéthane, trichloroéthane... ont des effets carcinogènes et sont dangereux pour l'environnement

- classe 2, toxiques mais acceptables : chloroforme, toluène, pyridine, méthanol, dioxanne... sont des carcinogènes animaux non génotoxiques ou éventuellement des agents causals d'autres effets toxiques irréversibles tel que la neurotoxicité ou la tératogénicité
- classe 3, les autres : éthanol ou encore des solvants ayant peu de données toxicologiques (éther).

Pour chaque classe, il existe une norme européenne sur les méthodes de recherche et sur les limites. [59]

Les catalyseurs (métaux lourds)

Ils sont toxiques intrinsèquement et peuvent provoquer, même à doses très faibles, des réactions catalytiques de dégradation du produit fini à l'origine d'une éventuelle inactivation ou d'une toxicité.

Les produits de dégradation

Apparaissant au cours du stockage dans des conditions particulières, ils peuvent également être responsables de phénomènes toxiques, comme par exemple l'épimérisation de la tétracycline en anhydro-4-épitétracycline sous l'effet de la chaleur et l'humidité, responsable de lésions tubulaires rénales de type Toni-Debré-Fanconi.

III-4-2-3-2. SUR LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU PRINCIPE ACTIF ET DE LA FORME GALENIQUE

L'une des conséquences les plus importantes de la présence de solvants résiduels absorbés sur la surface des cristaux est leur capacité à réduire leur mouillabilité, spécialement si le solvant concerné est hydrophobe [19]. Dans le cas où le solvant résiduel est l'eau, diverses conséquences peuvent être envisagées. Il y a bien sûr la possibilité d'hydrolyse de certaines fonctions

chimiques portées par la molécule considérée (par exemple esters, époxydes, etc.) conduisant à une instabilité qui peut limiter dans le temps l'utilisation de la molécule. Il y a, d'un point de vue physique, la possibilité, si la molécule contient des phases amorphes, de voir ces dernières subir dans le temps une transition de phase vers un état cristallisé sous l'influence de l'eau résiduelle. Une conséquence de ce phénomène peut être un ralentissement de la vitesse de dissolution voire une modification de la biodisponibilité [28]. Par ailleurs, l'eau résiduelle absorbée peut avoir un impact sur la coulabilité des poudres qui est liée à la solubilité de la substance [19]. D'autres paramètres physico-chimiques sont influencés par la présence de solvants résiduels comme la taille des particules et les propriétés de dissolution.

III-4-2-3-3. SUR L'ACCEPTABILITE DU MEDICAMENT PAR LE PATIENT

La présence de solvants résiduels peut sérieusement compromettre l'acceptabilité d'un produit pharmaceutique pour l'utilisateur du fait de l'odeur ou de la saveur qu'ils peuvent conférer. Rabiant J. cite le cas d'un principe actif cristallisé ayant subi un lavage à l'éther isopropylique, a priori non prévu dans le protocole de fabrication. Le soluté buvable préparé à partir de ce principe actif contenait 100 ppm de ce solvant, ce qui suffisait à conférer au médicament une odeur éthérée que la majorité des utilisateurs ne supportait pas ; le lot incriminé dut être retiré du marché [49].

III-4-2-4. FIXATION DES LIMITES D'IMPURETES

On fixe les limites d'impureté d'une substance pour en indiquer la qualité. Les contrôles des matières premières, de la fabrication, de même que les contrôles des substances pharmaceutiques ainsi que les études toxicologiques et cliniques effectuées assurent la sécurité et l'efficacité des produits.

Cependant, il est plus raisonnable d'identifier les impuretés ou les produits en dégradations et d'établir les limites. La fixation des limites d'impuretés ou des produits de dégradation dans les substances pharmaceutiques est un procédé complexe qui prend en considération un certain nombre de facteurs :

- 1- La toxicologie d'une substance contenant des niveaux typiques d'impureté et/ou la toxicologie des impuretés relative à une substance.
- 2- La voie d'administration : orale, locale, parentérale ou intrarachidienne.
- 3- la dose quotidienne c'est-à-dire la fréquence et quantité administrée d'un médicament.
- 4- La population cible
- 5- La pharmacologie d'une impureté indiquée
- 6- La source d'une substance médicamenteuse (exemple : synthétique, produit naturel ou biotechnologique.)
- 7- La durée de la thérapie c'est-à-dire administration sur une longue période (traitement des états chronique), contre administration destinée à une courte durée (traitement d'états/douleurs aiguës).
- 8- La possibilité pour un fabricant de produire de la matière uniformément de bonne qualité.

III-4-2-5. METHODE DE DETERMINATION DES IMPURETES

Les méthodes de séparations modernes jouent un rôle principal dans la recherche scientifique parce que ces méthodes séparent et mesurent simultanément les composants, et répondent à l'idéal analytique qui est d'effectuer les mesures que sur des spécimens purifiés.

Néanmoins, les méthodes les plus classiques basés sur la titrimétrie, la colorimétrie, la spectrophotométrie où tout autre essai ne perdent aucune de leur validité antérieure.

Concernant la dégradation de produits pharmaceutiques au fil du temps, les mêmes méthodes d'analyse qui indiquent la stabilité indiquent également la pureté.

Les impuretés peuvent être principalement identifiées par les méthodes suivantes [1]:

- Des méthodes spectrales,
- Des méthodes de séparation,
- Des méthodes caractéristiques ou spécifiques.

III-4-2-5-1. METHODES SPECTRALES

✓ Spectrophotométrie UV – visible [47]

Le coefficient d'absorption spécifique est caractéristique de la substance dans un solvant déterminé. La longueur d'onde maximale d'absorption est retenue. L'absorption mesurée doit être comprise entre deux limites définies par la monographie ou la fiche technique de la matière première. Si le produit et les impuretés à analyser absorbent en UV, on observe une augmentation de l'absorption en présence des impuretés.

✓ spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est un moyen de diagnostic permettant de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans une molécule. En effet, l'expérience montre que certaines fréquences de vibration, dites « fréquences de groupe », sont caractéristiques de la présence d'un groupement chimique dans la molécule étudiée.

Ainsi, la spectroscopie infrarouge est un très puissant moyen de caractérisation pour identifier des groupements moléculaires et obtenir de nombreuses

informations microscopiques sur leur conformation et leurs éventuelles interactions [49].

✓ *Spectrométrie de masse*

Le principe de la spectrométrie de masse est le suivant :

Un composé organique introduit dans le spectromètre de masse est ionisé par bombardement électronique à 70 eV. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé.

La spectrométrie de masse est une technique de détection extrêmement sensible qui permet de déterminer des structures moléculaires.

Le spectromètre de masse est souvent couplé avec un système de chromatographie en phase gazeuse, et cette association, d'une méthode séparative et d'une méthode d'identification, permet d'étudier des mélanges complexes à l'état de traces (quelques nano grammes de mélange) de certains composés.

Elle peut être employée pour l'identification de composés ou pour déterminer la composition d'un échantillon [22].

III-4-2-5-2. LES METHODES DE SEPARATION

Les méthodes chromatographiques suivantes :

Chromatographie sur couche mince (CCM).

Chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Chromatographie ionique (CI).

Chromatographie d'exclusion stérique.

Chromatographie en phase liquide haute performance (CLHP)

Chromatographie en phase supercritique (CPS).

Sont régulièrement utilisées pour la séparation des impuretés et produits de dégradation [1].

✓ ***Chromatographie sur couche mince [47]***

Un corps pur ne donne qu'une seule tâche après révélation. Cette méthode, très facile à mettre en œuvre, permet la mise en évidence d'impuretés ou de produits de dégradation.

✓ ***Chromatographie en phase gazeuse (CPG) [1]***

Une technique qui permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur. Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules.

Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, on parle de chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine, zéolites ou autres polymères adsorbants), c'est de la chromatographie d'adsorption.

✓ ***Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) [51]***

Lorsque la monographie spécifie une limite individuelle pour une impureté, il est possible de l'identifier à l'aide d'une substance de référence, d'un chromatogramme représentatif ou de la rétention relative par attribution des pics. L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (la phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie. Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé. Ce débit élevé diminue le temps

nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants. Les pics obtenus sont plus étroits donc la résolution est améliorée (les pics sont bien séparés), le seuil de détection est également plus bas (des pics étroits et hauts faciles à isoler du bruit de fond).

Il y a donc plusieurs types de chromatographies en phase liquide :

La chromatographie d'adsorption

Dans cette chromatographie, la phase stationnaire consiste en une matière solide à grand pouvoir d'adsorption, tel que l'oxyde d'aluminium, les silicates de magnésium, les gels de silice.

La chromatographie de partage

Dans cette chromatographie les analytes sont séparés en fonction de leur affinité avec les phases stationnaires et mobiles. L'affinité dépend de la polarité des analytes et des phases. En mode normal la phase stationnaire est polaire, en mode inverse elle est apolaire.

La chromatographie par échange d'ions

La phase solide est une résine insoluble munie de groupes fonctionnels capable de dissocier. Ce sont, habituellement, des groupes "acide sulfonique" (HSO_3^-) pour les échangeurs de cations et "ammonium quaternaire" (NR_3^+) pour les échangeurs d'anions. Elle est adaptée à la recherche des impuretés ioniques

La chromatographie d'exclusion stérique

Les composants sont séparés selon leur dimension moléculaire. La phase stationnaire est composée d'un matériau poreux (petites particules de silice ou de polymères), les molécules dont le diamètre est supérieur à celui des pores ne peuvent pénétrer et ne sont pas retenues.

La chromatographie chirale

Cette technique de chromatographie consiste en la formation de liaisons non covalentes entre les énantiomères du substrat et l'absorbant chromatographique chiral donnant des complexes diastéréoisomères ayant des affinités de liaisons différentes. Elle sert donc en particulier à séparer des énantiomères.

III-5. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE [42]

La présence de certains microorganismes dans des préparations non stériles peut réduire voire annuler l'activité thérapeutique du produit, et constitue un danger potentiel pour la santé du patient.

Le contrôle microbiologique des produits non stériles est réalisé selon les méthodes AFNOR et celle de la Pharmacopée Européenne édition 2008

III-5-1. PREPARATION DES ECHANTILLONS:

Le plan d'échantillonnage : utiliser un échantillon de 10 g ou 10 mL de la préparation à examiner. Effectuer les prélèvements au hasard dans les récipients dans lesquels est conditionnée la préparation. Le prélèvement doit être réalisé dans les conditions stériles.

Pour les produits hydrosolubles, Préparer une solution ou une dilution de 10 g ou de 10 mL du produit à examiner dans de la solution peptonée au chlorure de sodium pH 7, 0 ou dans un autre diluant approprié. Le rapport de dilution utilisé est en général de 1/10.

III-5-2. ENSEMENCEMENT DES ECHANTILLONS

Deux méthodes d'ensemencement ont été utilisées :

- ✓ **L'ensemencement en profondeur**

Utiliser des boîtes de Pétri d'un diamètre de 90 mm. Introduisez dans chacune d'elles 1 mL de l'échantillon préparé comme décrit plus haut, puis 15-20mL d'un milieu gélosé liquéfié adapté à la culture des bactéries ou d'un milieu gélosé liquéfié adapté à la culture des moisissures et levures ramené à une température ne dépassant pas 45°C. Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier. Procéder à l'incubation et au calcul.

✓ **L'étalement en surface**

Introduire dans les boîtes de Pétri 15-20 mL d'un milieu gélosé liquéfié adapté à la culture des bactéries ou d'un milieu gélosé liquéfié adapté à la culture des moisissures et levures à température ne dépassant pas 45°C environ, puis laisser solidifier. Faire sécher les boîtes à l'étuve. Étaler à la surface du milieu environ 0,1mL de l'échantillon préparé. Procéder à l'incubation et au calcul.

III-5-3.CRITERES D'ACCEPTATION

Les critères d'acceptation applicables aux produits pharmaceutiques non stériles sur la base du dénombrement des germes aérobies totaux(DGAT) et du dénombrement des moisissures et levures totaux(DMLT) sont exprimés dans le tableau suivant :

Tableau IV : Critères d'acceptation microbiologiques des produits pharmaceutiques [42]

Voie d'administration	DGAT (UFC/g ou UFC/mL)	DMLT (UFC/g ou UFC/mL)	Microorganismes spécifiés
Voie orale : préparation non aqueuse	10 ³	10 ²	Absence d' <i>Escherichia coli</i> (1g ou 1 mL)
Voie orale : préparation aqueuse	10 ²	10 ¹	Absence d' <i>Escherichia coli</i> (1g ou 1 mL)

Interprétation des résultats :

Lorsqu'un critère d'acceptation est prescrit en matière de qualité microbiologie, il est interprété comme suit :

- 10^1 UFC = nombre maximale acceptable = 20
- 10^2 UFC = nombre maximale acceptable = 200
- 10^3 UFC = nombre maximale acceptable = 2000

Deuxième Partie

ETUDE EXPERIMENTALE

CADRE DE L'ETUDE

Notre étude s'est déroulée de Mai 2009 à Mai 2010. Elle a été conduite dans le laboratoire de Contrôle qualité des médicaments du Laboratoire National de la Santé Publique(LNSP) sise à Treichville, Boulevard de Marseille, où ont été réalisés les essais analytiques, les tests galéniques, le test de délitement et les tests microbiologiques. Le test de dissolution du fait de l'indisponibilité du dissolutest du LNSP, a été effectué au laboratoire de Contrôle qualité de l'unité industrielle CIPHARM situé à Cocody Riviera Attoban.

I- ECHANTILLONNAGE

Le prélèvement des échantillons s'est fait à la pharmacie centrale du CHU de Treichville et au niveau des sites de pédiatrie et du PPH du CHU de Treichville. Il s'agissait de prélever des lots différents et pour un même lot choisir des échantillons sur les différents sites de prélèvement. L'étude a donc porté sur cinq lots différents de sirop de zidovudine des laboratoires AUROBINDO et trois lots de gélule de zidovudine des laboratoires GSK (Retrovir®) et AUROBINDO disponibles dans le circuit officiel. Le choix du lieu de prélèvement se justifie par le fait que les mêmes lots ont été distribués en même temps sur l'ensemble du territoire par la PSP durant la période de nos travaux ; aussi le choix s'est fait au hasard. L'étude a concerné les sirops dosés à 50 mg/5mL et les gélules dosées à 100 mg.

Les médicaments ont été prélevés sur la période de Mai 2009 à janvier 2010 ; parce qu'il fallait attendre que le lot s'épuise.

Aussi pour les sirops, nous avons retenu cinq lots de fabrication du seul laboratoire fournisseur durant cette période et dans chaque lot six échantillons et pour les gélules trois lots dont deux de la marque RETROVIR® et un d'AUROBINDO, les seuls lots disponibles pendant la période indiquée. La taille de l'échantillon est de 30 pour les sirops.

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

Tableau V : Présentation des échantillons

Lieu d'acquisition	Forme galénique	Numéro de lot de fabrication	Date de péremption	Nombre d'échantillon	Numérotation	Fabricant
Pharmacie centrale	Zidovudine sirop	ZE0509033	04/2011	06	A	Aurobindo
PPH	Zidovudine sirop	ZE0508029	08/2010	06	B	Aurobindo
Pharmacie centrale	Zidovudine sirop	ZE0509032	04/2011	06	C	Aurobindo
Pharmacie centrale	Zidovudine sirop	ZE0508027	08/2010	06	D	Aurobindo
Pédiatrie	Zidovudine sirop	ZE0507014	04/2010	06	E	Aurobindo
Pharmacie centrale	RETROVIR gélule	X4021	08/2010	30	F	GSK
Pédiatrie	RETROVIR gélule	X6971	03/2011	30	G	GSK
Pharmacie centrale	Zidovudine gélule	ZC1009006	04/2011	30	H	Aurobindo

II- MATERIEL ET METHODES

II-1 MATERIEL

II-1-1. APPAREILLAGE

Les appareils utilisés sont composés de :

- ✓ Un chromatographe liquide à haute performance WATERS composé de :
 - Un détecteur UV : WATERS 2487(dual λ absorbance detector)
 - une pompe WATERS 1525(binary HPLC pump)
 - Un intégrateur-enregistreur WATERS piloté par le logiciel BREEZE
 - un injecteur automatique WATERS 717 PLUS
- ✓ une balance SARTORIUS ED 224 S,
- ✓ une balance SARTORIUS AG 60706689
- ✓ un dispositif de dissolution à ultra-sons ELMA S 450 H ELMASONIC
- ✓ un pH-mètre CONSORT C861,
- ✓ un delitest ERWEKA ZT 74,
- ✓ un dissolutest PHARMATEST Type PTW II (Allemagne)
- ✓ une étuve SELECTA 80°C
- ✓ un bain-marie PROLABO Stabitherm A : 6 :5 n°0156882
- ✓ un stérilisateur UNICLAVE 88 Portugal

II-1-2. VERRERIES ET ACCESSOIRES

La verrerie classique de laboratoire a été utilisée.

Des filtres MINISART à usage unique de diamètre 0,45 μ m.

120 boîtes de Pétries.

Un bec Bunsen

Pipettes pasteur stériles

Etaleurs stériles

II-1-3. PRODUIT DE REFERENCE ET REACTIFS

II-1-3-1. PRODUITS DE REFERENCE

Les produits de référence utilisés pour l'étude sont :

- La zidovudine SCR
- Stavudine RS (impureté A)
- Zidovudine impureté B RS
- Thymine R (impureté C)
- zidovudine RS (lot n° 105236)

Source : centre collaborateur OMS des substances chimiques de référence.

II-1-3-2. REACTIFS

Les réactifs utilisés sont tous de qualité analytique:

- Méthanol pour HPLC
- Acide acétique glacial
- Acétate de sodium Normapur RP pour analyse
- Eau distillée

Préparation de la solution tampon d'acétate de sodium 0,045M ajusté à pH 5,3[56]

Peser 3,281 g d'acétate de sodium dans une fiole de 1000 mL, dissoudre avec une quantité suffisante d'eau et porter au volume avec le même solvant, homogénéiser. Ajuster le pH à 5,3 avec l'acide acétique glacial

II-2 METHODES

II-2-1. CONTROLE DES CARACTERES GENERAUX

II-2-1-1. CONTROLE DE L'ETIQUETAGE [31,48]

Il consiste à vérifier si les règles d'étiquetage (notice, conditionnement primaire et secondaire) des médicaments sont respectées.

II-2-1-2. CONTROLE DES CARACTERES ORGANOLEPTIQUES [47]

Il consiste à observer la forme, l'aspect, la couleur, l'odeur des sirops de zidovudine et gélules.

II-2-2. CONTROLES GALENIQUES ET BIOGALENIQUES

II-2-2-1. CONTROLE GALENIQUE

Le contrôle galénique comprend les tests de régularité de masse.

Régularité de masse des gélules [41]

Ce test s'est effectué sur vingt unités pour chaque lot de gélules. On procède en pesant d'abord la capsule pleine. Ensuite elle est ouverte et vidée complètement. On pèse la gélule et la masse du contenu est calculée par différence. L'opération est répétée sur 19 autres gélules et la masse moyenne est déterminée.

II-2-2-2. CONTROLES BIOGALENIQUES

Ils vont concerner essentiellement les gélules.

II-2-2-2-1. TEST DE DELITEMENT [8,41]

L'appareil utilisé est composé de six tubes verticaux. Dans chaque tube, est placée une gélule et un disque cylindrique plastique. L'ensemble est

immergé dans un vase cylindrique contenant de l'eau distillée et subit des mouvements alternatifs verticaux de montée-descente à la température de 37° C. La désagrégation est atteinte lorsqu'il n'y a plus de résidu sur la grille ou s'il subsiste un résidu constitué seulement par une masse molle ne comportant pas de noyau palpable ou par des fragments d'enrobage.

Le test a été effectué sur six gélules de chaque lot de gélule contrôlé.

II-2-2-2.2. TEST DE DISSOLUTION [59]

L'appareil de dissolution utilisé pour notre étude est l'appareil à palette tournante. Les conditions de réglage de l'appareil pour l'essai sont les suivantes :

- Vitesse de rotation des agitateurs : 100 ± 4 tours/ minute
- Volume du milieu de dissolution : 1000 mL
- Milieu de dissolution : Solution d'acide chlorhydrique 0,1 N

Six gélules de chaque échantillon sont placées dans chaque cuve.

Les échantillons sont prélevés manuellement à l'aide d'une seringue de 5 mL à des intervalles de 5 ; 10 ; 20 ; 30 ; 45 minutes, dans une zone située à mi-chemin entre la surface du liquide de dissolution et l'extrémité inférieure de l'agitateur. Chaque prélèvement est remplacé par le milieu de dissolution pour maintenir le volume constant.

Ces prélèvements sont dilués et dosés par chromatographie liquide haute performance dans les mêmes conditions que le dosage des échantillons.

Au bout de 45 min, pas moins de 75 % du principe actif doit être dissout.

II-2-3. PROCEDURE ANALYTIQUE

II-2-3-1. MISE AU POINT DE LA METHODE DE DOSAGE PAR CLHP

Elle porte essentiellement sur le choix de la longueur d'onde, la phase stationnaire, le débit et la composition de la phase mobile.

Le but est d'obtenir les conditions adaptées à l'analyse de la zidovudine sirop et gélule.

II-2-3-2. CONFORMITE DU SYSTEME CLHP [41]

Les essais de conformité du système font partie intégrante de la méthode et visent à vérifier les performances du système chromatographique. Les paramètres généralement utilisés pour évaluer les performances de la colonne sont l'efficacité apparente, le coefficient de distribution massique, la résolution, la rétention relative et le facteur de symétrie. Les facteurs pouvant affecter le comportement chromatographique sont notamment la composition, la force ionique, la température et le pH apparent de la phase mobile, le débit, la longueur de la colonne, la température, la pression et certaines caractéristiques de la phase stationnaire comme la porosité, la granulométrie, la nature des particules et la surface spécifique. Pour la conformité du système nous avons procédé à des calculs de résolution, de symétrie de pic et de rétention relative.

- **Préparation de la solution pour la conformité du système :**

Dissoudre environ 5 mg de zidovudine RS dans la solution (TSB), préparée comme décrit ci-dessous, et diluer à 10 mL avec la même solution. Solution (TSB) : dissoudre 1 mg de chacune des impuretés, thymine R (impureté C), stavudine RS (impureté A) et zidovudine impureté B RS dans la phase mobile et compléter à 10 mL avec la phase mobile ; diluer 1mL de la solution obtenue 10 mL avec le même solvant [56].

- ***La résolution du système [56].***

$$R_s = \frac{1,18(tr_2 - tr_1)}{w_{h1} + w_{h2}}$$

t_{r1} et t_{r2} = temps de rétention ou distances sur la ligne de base entre le point d'injection et les perpendiculaires abaissées des maximums de 2 pics adjacents,

w_{h1} et w_{h2} = largeur des pics à mi hauteur

Il faudra déterminer :

- la résolution zidovudine/thymine $\geq 5,0$
- la résolution zidovudine/impureté B $\geq 2,0$

- ***Facteur de symétrie de la zidovudine [56].***

Il est donné par l'expression :

$$A_s = \frac{w_x}{2d}$$

w_x = largeur du pic au 1/20^{ème} de sa hauteur (min).

d = distance entre la perpendiculaire abaissée du maximum du pic et le bord d'entrée du pic au 1/20^{ème} de sa hauteur (min).

A_s zidovudine doit être inférieur à 2,0

II-2-3-3. PROCEDURE DE VALIDATION [9]

La validation d'une procédure se définit comme étant le processus par lequel l'on établit que les caractéristiques de la méthode correspondent à l'usage pour lequel elle est prévue.

Les critères de validation de notre étude sont :

- la linéarité
- la précision
- l'exactitude
- la sensibilité

II-2-3-3-1. LA LINEARITE

Définition

La linéarité est la capacité d'une méthode à fournir à l'intérieur d'un intervalle des résultats directement proportionnels à la concentration de la substance à analyser dans l'échantillon.

L'étude de la linéarité a été faite sur une gamme étalon (0,156 ; 0,180 ; 0,202 ; 0,220 ; 0,242 mg/mL) obtenue par dilution de la solution mère de référence.

Préparation de la gamme étalon

Solution de référence (0,2 mg/mL ou 200 mg/l)

Peser 10 mg de zidovudine pur et dissoudre dans 50 mL de phase mobile pour obtenir une solution à 0,2mg de zidovudine par mL [56].

Solutions de référence diluées

Les solutions de référence diluées sont obtenues par dilution extemporanée de la solution de référence mère.

Analyse des différentes solutions de la gamme étalon.

Les différentes solutions diluées sont analysées. Chaque solution est analysée trois fois. A partir des résultats obtenus, on détermine les différents paramètres :

- Coefficient de corrélation **r**
- Coefficient de détermination **r²**
- Equation de la droite de régression **y = ax + b.**

II-2-3-3-2. LA PRECISION

La précision ou fidélité comprend la répétabilité et la reproductibilité. Elle traduit l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions précises.

La répétabilité exprime la fidélité sous des conditions identiques : même analyse, même équipement, même réactif, et dans des conditions aussi stables que possible sur un intervalle de temps court.

❖ Répétabilité de l'analyse chromatographique

La solution de référence de la zidovudine est analysée à 6 reprises puis les coefficients de variation sont ensuite calculés.

$CV = \frac{100 \times \sigma}{x}$	$\sigma = \text{écart type}$	$x = \text{moyenne}$
------------------------------------	------------------------------	----------------------

Répétabilité sur les échantillons de sirop de zidovudine

Un extrait de l'un des lots est analysé, selon les conditions chromatographiques retenues, à six reprises et le coefficient de variation (CV) est calculé.

Répétabilité sur les échantillons de gélule de zidovudine

Un extrait de l'un des lots est analysé, selon les conditions chromatographiques retenues, à six reprises et le coefficient de variation (CV) est calculé.

Répétabilité de la procédure d'analyse avec les sirops

Un échantillon de l'un des lots retenus pour l'étude est prélevé à six reprises (10mL dans 50mL de phase mobile). Chaque préparation est analysée selon les conditions chromatographiques retenues. Le coefficient de variation (CV) est ensuite calculé sur l'ensemble des résultats obtenus.

Répétabilité de la procédure d'analyse avec les gélules

Un échantillon de l'un des lots retenus pour l'étude est prélevé à six reprises (23,1mg dans 50mL de phase mobile). Chaque préparation est analysée selon les conditions chromatographiques retenues. Le coefficient de variation (CV) est ensuite calculé sur l'ensemble des résultats obtenus.

II-2-3-3-3. L'EXACTITUDE

❖ Définition

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre une valeur exacte ou acceptée et la valeur (ou la moyenne des valeurs) obtenues en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois.

❖ Méthode des ajouts dosés

A une quantité d'échantillon, trois ajouts à différentes concentrations de solutions de référence (0,02 ; 0,04, et 0,06 mg/l) sont effectués. Ces échantillons avec ajout ou sans ajout sont analysés. Les pourcentages de récupération évaluant l'exactitude sont calculés.

II-2-3-3-4. LA LIMITE DE DETECTION ET LIMITE DE QUANTIFICATION

La limite de détection correspond à la plus petite quantité de substance pouvant être mise en évidence dans un échantillon sans pouvoir être quantifiée.

La limite de quantification correspond à la plus faible concentration détectable et intégrable.

II-2-4. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE

Il existe en matière de contrôle microbiologique 2 grands types de déterminations spécifiques :

- essais qualitatifs de présence ou absence de microorganismes.
- essais quantitatifs de dénombrement de microorganismes : la filtration sur membrane et le dénombrement sur plaque sont les méthodes conventionnelles utilisées pour estimer le nombre de microorganismes viables présent dans un échantillon [18]. Le dénombrement sur plaque sera donc utilisé dans notre étude.

Ce contrôle n'a concerné que les sirops de zidovudine et s'est déroulé **au laboratoire de microbiologie** du LNSP.

II-2-4-1. PREPARATION DES ECHANTILLONS

Nous avons réalisé une dilution de 10 mL de l'échantillon dans 90 mL de solution tampon peptonée au chlorure de sodium à pH 7.0 (eau peptonée).

II-2-4-2. EXAMENS DES ECHANTILLONS

Pour chaque échantillon, trois solutions de dilutions : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ont étéensemencées.

II.2-4-3. MILIEUX DE CULTURES UTILISES

❖ Baird-Parker [32]

Il est employé pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*staphylocoque aureus* et autres espèces) dans les produits destinés à la consommation humaine ou animale et dans les produits non nécessairement

stériles de la pharmacopée. L'étalement se fait en surface et l'incubation à 37°C. Des colonies grises à noires et ayant un halo clair ou blanchâtre autour des colonies signent un résultat positif.

❖ **Eau Peptonée [34]**

Milieu liquide utilisé pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique. Il favorise la croissance des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières. Le pH est de $7,2 \pm 0,2$

L'ensemencement se fait avec la culture de la bactérie à étudier à $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 à 48 heures. Une culture positive se traduit par un trouble du milieu

❖ **Gélose Hektoen [55]**

Milieu utilisé pour l'isolement des entérobactéries et la différenciation des entérobactéries pathogènes dans les produits destinées à la consommation humaine ou animale et dans les produits non nécessairement stériles de la pharmacopée. L'ensemencement se fait en surface et incubation à $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 à 48 heures. Pour la lecture on recherchera :

- colonies saumon : *Escherichia*, *Levinea*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Yersinia*.
- colonies saumon à centre noir : *Proteus vulgaris*
- colonies bleu-vert à centre noir : suspicion de *shigelle* ou de *salmonella* à différencier de *Proteus morganii* ou *Rettgeri* de *Providencia*, *Hafnia*, *Levinea*.

❖ **PCA (Plate count agar) ou Gélose pour dénombrement [2]**

Milieu gélosé utilisé lors du dénombrement de la flore aérobie totale des eaux et des produits alimentaires.

L'Ensemencement se fait en profondeur et l'incubation à 37°C pendant 72 heures. Pour le calcul, les boîtes entre 30 et 300 colonies sont retenues.

❖ **Milieu Rapide *Escherichia coli* [35]**

C'est un milieu pour la recherche directe et le dénombrement d'*Escherichia coli* et des coliformes dans les produits destinés à l'alimentation humaine et animale. On procède par ensemencement en profondeur et l'on incube à 44°C pendant 24 heures.

Les colonies d'*Escherichia coli* sont roses à violettes.

❖ **Gélose Sabouraud +Chloramphénicol**

Cette gélose est recommandée pour l'isolement de toutes les espèces de levures ainsi que les dermatophytes à partir de prélèvement contaminés. Ensemencer 0,1mL de l'échantillon et de ses dilutions décimales sur une boîte de milieu et incuber à 25°C pendant 5 jours. Pour la lecture, nous avons dénombré séparément les levures et moisissures.

❖ **V.R.B.G. (gélose à la bile, au cristal violet et au glucose)**

Utilisé pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries par la technique de comptage des colonies lors de l'analyse des produits alimentaires. Le principe repose sur l'aptitude des enterobacteriaceae à fermenter le glucose (colonies rouges). On ensemence en profondeur l'échantillon et ses trois dilutions décimales.

❖ **V.R.B.L. (Gélose à la bile, au cristal violet et au lactose) [33]**

Milieu sélectif pour le dénombrement des coliformes dans les produits alimentaires et les eaux.

L'incubation se fait à 44,5°C pendant 24 heures. L'on recherche des colonies violacées ou pourpre d'un diamètre supérieur à 0,5 mm.

II.2-4-4. METHODE DE CALCUL [42]

Nous n'avons sélectionné que les boîtes correspondant à une dilution et présentant le plus grand nombre de colonies inférieur à 300 (100 pour les moisissures et levures). Nous avons pris la moyenne arithmétique des dénombrements et calculé le nombre d'unité formant colonie par gramme ou par millilitre de produit.

Nous avons travaillé à trois dilution : 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} correspondant à des concentrations respectives de 0,1 mg /mL ; 0,01mg /mL et 0,001 mg /mL.

$$N = \frac{\sum a}{1,1d} \quad [18]$$

Au numérateur : la somme des colonies répondant aux critères d'identification sur les 2 boîtes retenues.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

RESULTATS

III-1. CONTROLE DES CARACTERES GENERAUX

III-1-1. CONTROLE DE L'ETIQUETAGE DES ECHANTILLONS

Tableau VI : Contrôle de l'étiquetage des échantillons

NB : + = Présence CP : conditionnement primaire
 - = Absence CS : conditionnement secondaire

Eléments contrôlés		Zidovudine sirop 50 mg/5mL										Zidovudine gélule 100mg				
		A		B		C		D		E		F		G		H
		CP	CS	CP	CS	CP	CS	CP	CS	CP	CS	CP	CS	CP	CS	CP
DCI en caractères apparents		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Forme pharmaceutique		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Composition quantitative		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Date limite d'utilisation		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nom et adresse du Fabricant		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Numéro et lot de fabrication		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nombre et unité de prise ou contenance		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voie d'administration		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NOTICE	Mode d'administration	+		+		+		+		+		+		+		+
	Durée du traitement	-		-		-		-		-		+		+		-
	Posologie	+		+		+		+		+		+		+		+
	Indication	+		+		+		+		+		+		+		+
	Contre indications	+		+		+		+		+		+		+		+
	Effets secondaires	+		+		+		+		+		+		+		+
	Précautions d'emploi	+		+		+		+		+		+		+		+

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

Seuls les échantillons F et G (Retrovir®) présentent sur l'étiquette un filet rouge avec une contre-étiquette rouge portant la mention « RESPECTER LES DOSES PRESCRITES » et « UNIQUEMENT SUR ORDONNANCE ».

(Conformément à l'appartenance de la zidovudine à la liste I des substances vénéneuses).

III-1-2. CONTROLE DES CARACTERES ORGANOLEPTIQUES DES ECHANTILLONS

Tableau VII : Contrôle des Caractères organoleptiques

Médicaments Paramètres	Zidovudine sirop 50 mg/5mL					Zidovudine gélule 100mg		
	A	B	C	D	E	F	G	H
Couleur	Incolore	incolore	incolore	Incolore	incolore	ivoire+bleu	ivoire+ bleu	ivoire
Odeur	Arome de fraise	Arome de fraise	Arome de fraise	Arome de fraise	Arome de fraise	neutre	neutre	neutre
Saveur	Sucré	Sucré	sucré	Sucré	Sucré	neutre	neutre	neutre
Aspect	Liquide incolore	Liquide incolore	Liquide incolore	Liquide incolore	Liquide incolore	Gélule en gélatine gravée wellcome	Gélule en gélatine gravée Wellcome	Gélule en gélatine

Tous les échantillons ne présentent aucun signe apparent de dégradation.

III-2 CONTROLES GALENIQUES ET BIOGALENIQUES

III-2-1. CONTROLE GALENIQUE

III-2-1-1. REGULARITE DE MASSE DES GELULES

Tableau VIII : Régularité de masse des gélules

Ni \ Echantillons	Lot 4021(F)	Lot 6971(G)	Lot 1009006(H)
1	0,2324	0,2359	0,1771
2	0,2364	0,2323	0,1769
3	0,2315	0,234	0,1848
4	0,2343	0,2376	0,175
5	0,2353	0,2362	0,1826
6	0,2363	0,2263	0,1695
7	0,2372	0,2283	0,1793
8	0,2353	0,2223	0,167
9	0,2365	0,2361	0,1803
10	0,2334	0,241	0,1802
11	0,2348	0,2336	0,1712
12	0,2346	0,2389	0,1831
13	0,2357	0,2329	0,1692
14	0,2321	0,2389	0,1821
15	0,235	0,2325	0,1821
16	0,2264	0,2323	0,1720
17	0,2336	0,2308	0,1753
18	0,2327	0,2376	0,1767
19	0,2361	0,2376	0,1846
20	0,2372	0,2289	0,1786
Moyenne(g)	0,2349	0,2344	0,1774
Ecart type	0,0020	0,0045	0,1606
Ecart limite (10%)	[0,2114-0,2584]	[0,2110-0,2578]	[0,1596-0,1951]

Pour les échantillons de gélules analysés, nous notons une régularité de masse conforme. Aucune gélule n'a une masse au-delà de l'écart limite acceptable.

III-2-2. CONTROLE BIOGALENIQUES

III-2-2-1. DELITEMENT DES ECHANTILLONS DE GELULES

Tableau IX : Temps de délitement des échantillons de gélules

Temps (min) Echantillons	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Temps Moyen	Norme
Lot 4021(F)	3,44	3,5	4,07	4,3	4,35	4,25	4,18	gélules < 30 min
Lot 6971(G)	6,43	6,51	6,47	7,05	6,40	6,54	6,57	
Lot 1009006(H)	2,30	2,16	3,04	3,05	3,07	3,15	2,87	

Les temps moyens de délitement pour l'ensemble des échantillons sont conformes aux normes.

III-2-2-2. DISSOLUTION DES GELULES

Tableau X : Dissolution des gélules

Temps en min	Pourcentages de libération <i>Retrovir 4021(F)</i>	Pourcentages de libération <i>Retrovir 6971(G)</i>	Pourcentage de libération <i>Zidovudine(H)</i>
0	0	0	0
5	42,9	38,8	46
10	79,4	78,4	73,6
15	83	80,1	79,3
20	90	87,2	89,5
30	94,7	93,5	96,9
45	96,9	95,5	98

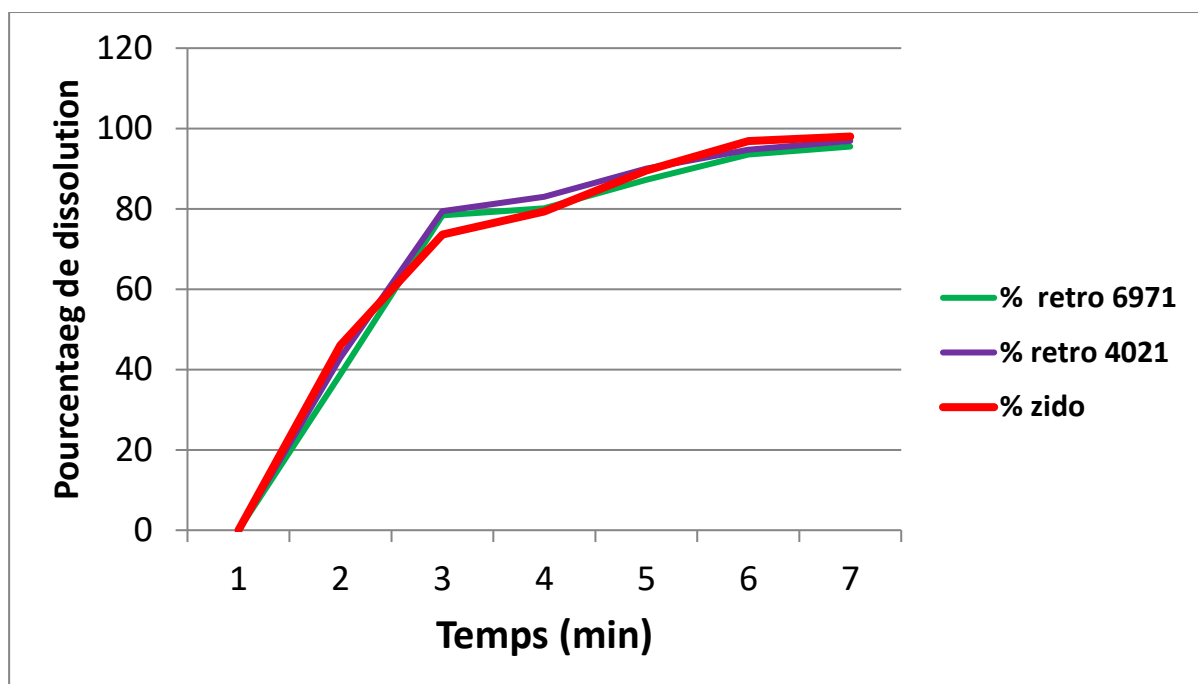


Figure 6 : *Cinétique de dissolution des gélules F, G, et H*

Ces trois échantillons ont un temps dissolution conforme, tous les échantillons ont un pourcentage de dissolution supérieur à 75 % au bout de 45 minutes

III-3 CONTROLE CHIMIQUE

III-3-1. MISE AU POINT DE LA METHODE DE DOSAGE

Les méthodes de dosage des produits finis sont supposées avoir été mises au point et validées par le fabricant utilisant les critères définis dans les Bonnes Pratiques de Laboratoire et la conférence internationale d'harmonisation (ICH). Ne disposant pas de la méthode du fabricant nous nous sommes inspirés de la Pharmacopée internationale ; qui donne une méthode d'identification et de dosage de la zidovudine sirop et de ses substances apparentées. Cette méthode a alors été validée et adaptée au dosage des gélules dans les conditions d'analyse adoptées.

Les conditions décrites sont les suivantes :

- Phase mobile : Acétate de sodium 0,045M (pH = 5,3) ; Méthanol (80 : 20 v / v)
- Phase stationnaire : Colonne C 18 (250×4,6 mm) , 5µm
- Détection : 265 nm en UV

➤ Choix de la longueur d'onde

La longueur d'onde d'identification des substances apparentées est de 254 nm et la longueur d'onde de dosage 265 nm.

➤ Choix de la phase stationnaire

Nous avons utilisé la même colonne que celle de la pharmacopée de type C18 dont nous disposons au Laboratoire Nationale de la Sante Publique.

➤ Choix de la phase mobile

La mise au point de la méthode d'analyse a porté essentiellement sur la modification de la composition de la phase mobile :

Méthanol pour CLHP.....25 volumes
Acétate de sodium 0,045M (pH = 5,3).....75 volumes

➤ **Choix du débit**

Le débit est de 1,2 mL /min

➤ **Autres paramètres**

Volume d'injection.....10 µl

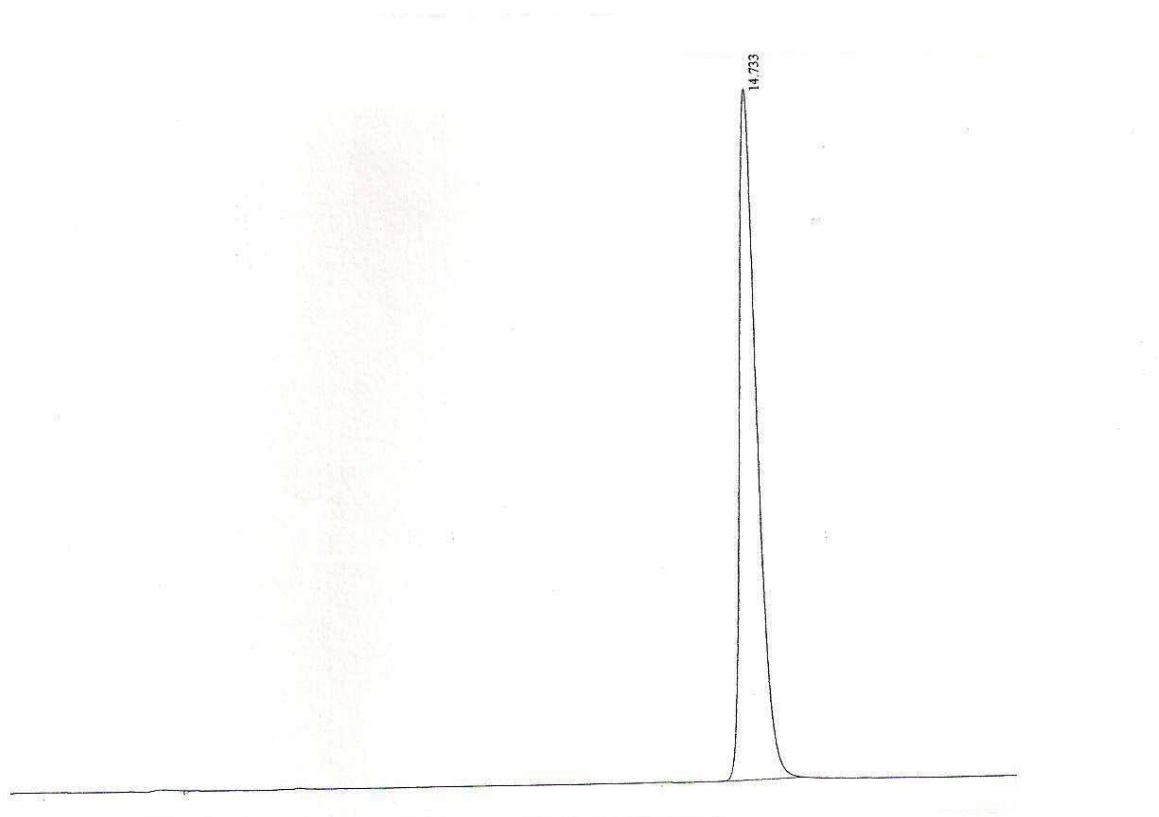
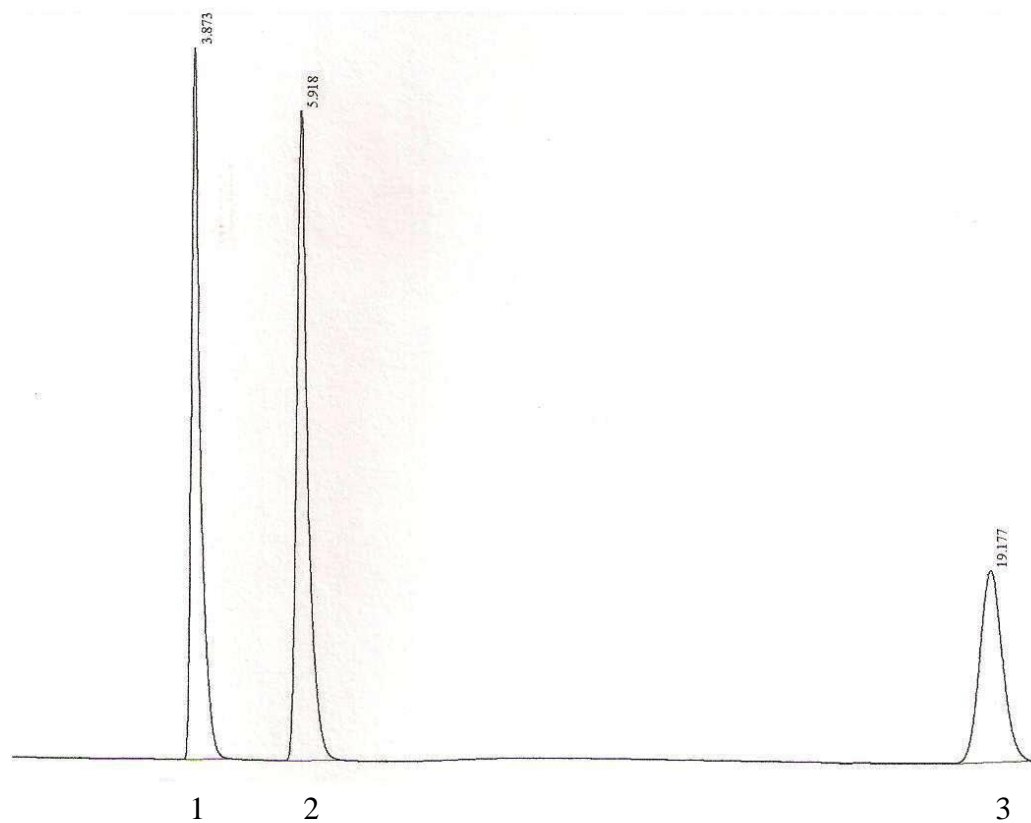
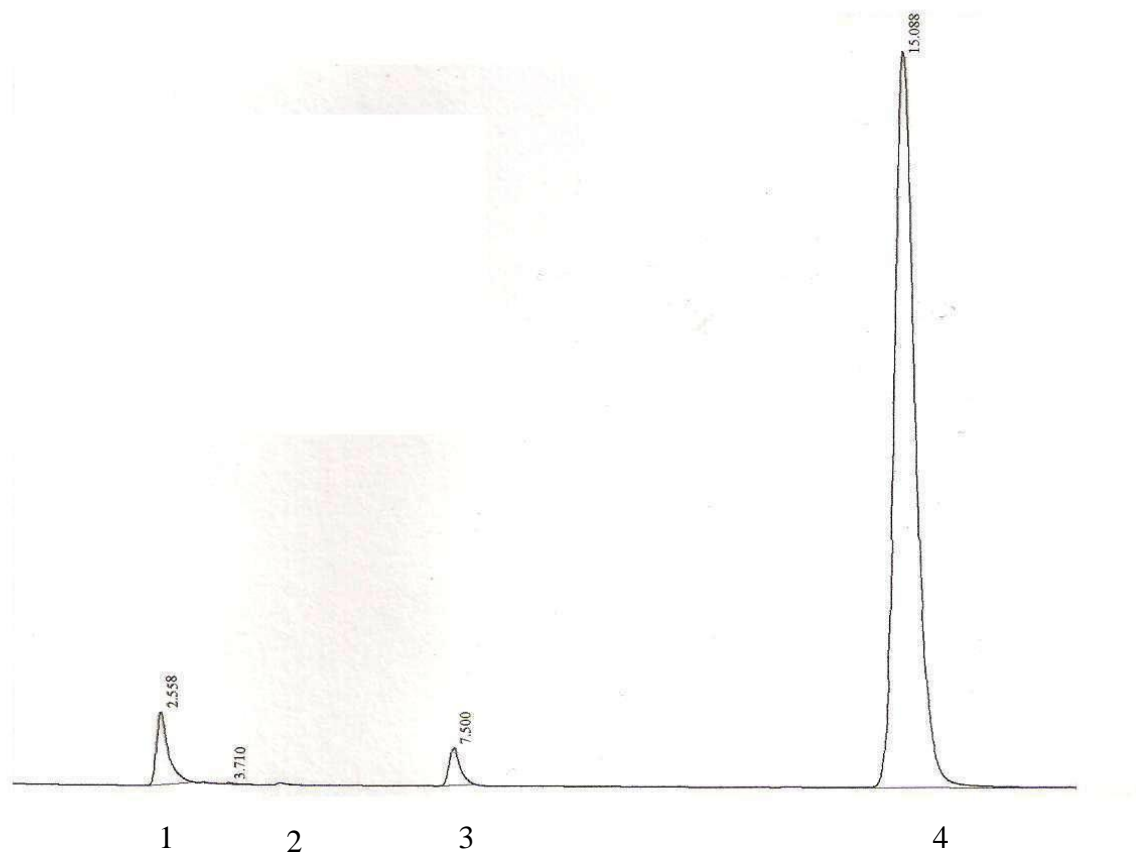


Figure 7: Chromatogramme d'une solution de zidovudine SCR à 0,200mg/mL



1 : Thymine
2 : Stavudine
3 : Impureté B

Figure 8 : Chromatogramme des substances apparentées standards



- 1 : Thymine
- 2 : pic inconnu
- 3 : Stavudine
- 4 : Zidovudine

Figure 9 : Chromatogramme d'un échantillon de sirop A à 0,202mg/mL

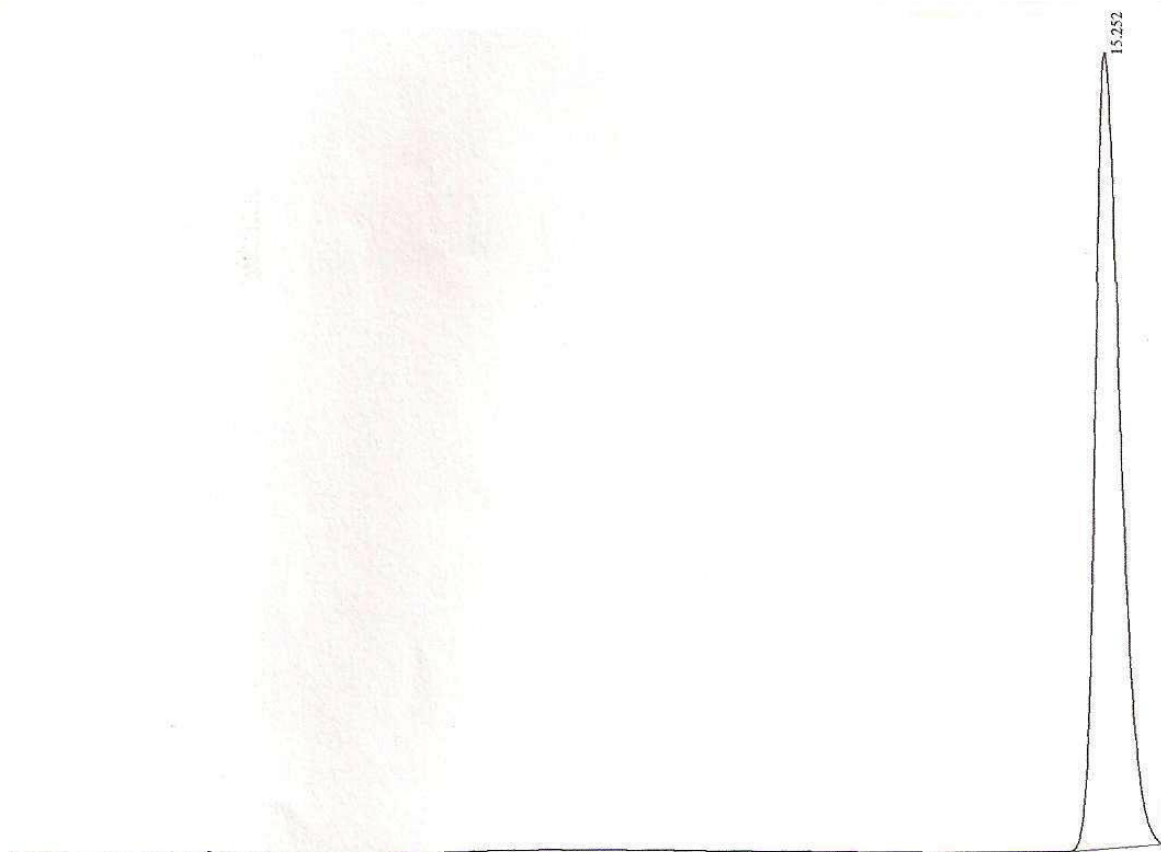


Figure 10 : Chromatogramme d'un échantillon de gélule F à 0,202mg/mL

III-3-1-1. PREPARATION DE LA GAMME ETALON ET DES ECHANTILLONS

➤ *Solution d'échantillons*

Peser exactement une quantité de sirop contenant 10 mg de zidovudine (soit environ 1 mL) et diluer dans 50mL de phase mobile.

Pour les gélules, prélever une quantité de poudre correspondant à 10 mg de zidovudine (soit 23 mg environ) et dissoudre dans 50mL de phase mobile. Filtrer et mettre à l'ultrason pendant 20 minutes. Dégazer. Les solutions échantillons sont dosées à 0,2 mg/mL de zidovudine.

➤ *Solution de référence (0,2 mg/mL)*

Dissoudre 20,0 mg de zidovudine RS 100 ,0 mL. On obtient une solution contenant également 0,2mg/mL de zidovudine.

➤ *Solution pour le test de conformité*

Dissoudre une petite quantité (environ 2 mg) de chacune des impuretés : thymine R (impureté C) et impureté B de zidovudine RS dans 10 mL de méthanol R. transférer 1 mL de cette solution dans une fiole jaugée de 50 mL et compléter au volume avec la solution de l'échantillon.

III-3-1-2- LA CONFORMITE DU SYSTEME

Tableau X : Conformité du système

Résolution	Essai	Norme
Zidovudine /thymine	30,39	>5,0
Zidovudine/impureté B	3 ,94	>2,0
Facteur de symétrie zidovudine	1,020	<2

Le système de chromatographie est conforme et apte pour la validation de la méthode.

III-3-1-3. LINEARITE DE LA METHODE

Nous avons utilisé la poudre de zidovudine de référence pour la linéarité. Ce domaine de linéarité est compris entre 0,156 mg/mL et 0,242 mg/mL

Tableau XI: Etalonnage de la méthode de dosage

Concentration (mg/mL)	Surface sous la courbe
0,156	5941853
0,180	6668063
0,202	7198000
0,220	7957234
0,242	8601917

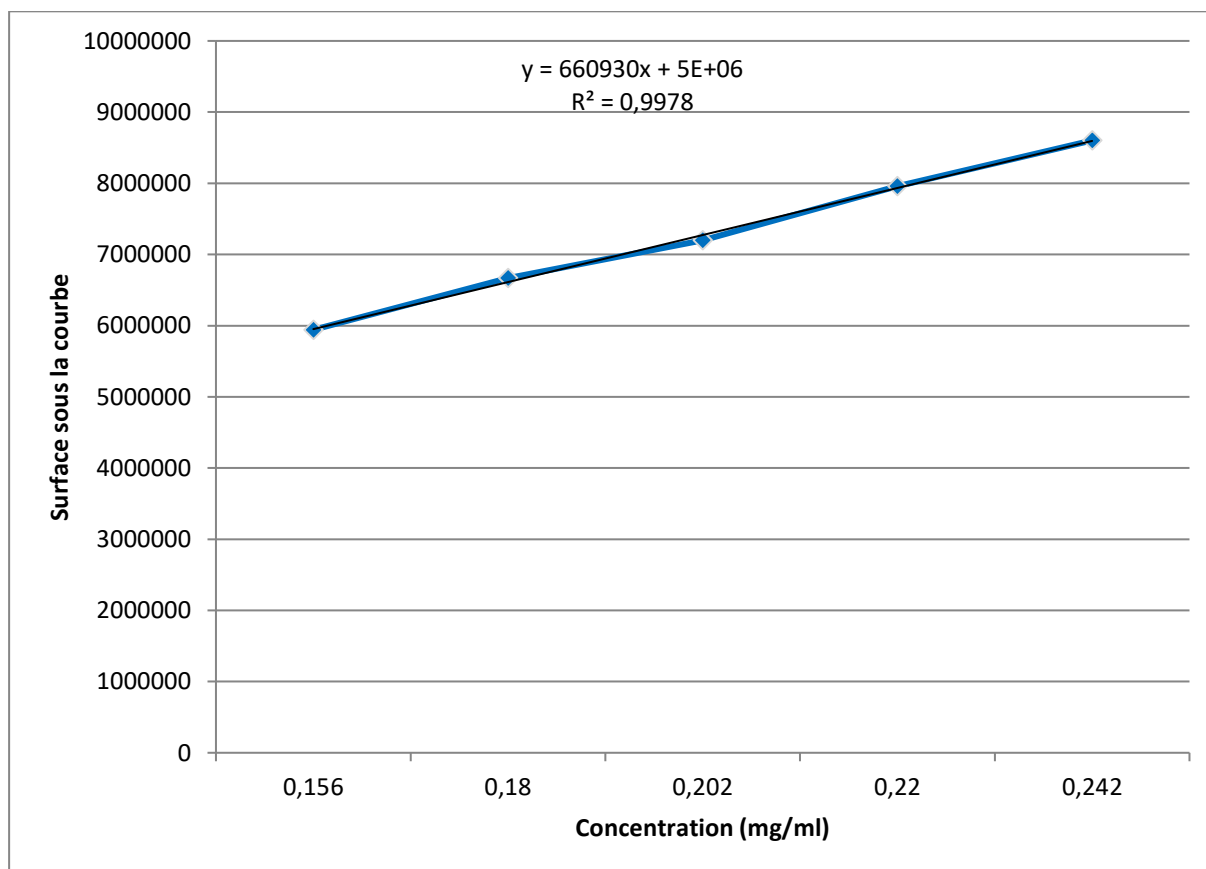


Figure 11 : Droite de régression de la gamme étalon de la zidovudine

Les caractéristiques de la droite de régression sont les suivantes :

- Coefficient de corrélation : $r = 0,9997$
- Coefficient de détermination $r^2 = 0,9978$
- Equation de la droite de régression

$$Y = 660930X + 5E+06$$

X = concentration en mg/mL

Y = surface des pics chromatographiques

Ces coefficients de détermination et de corrélation sont proches de 1.

III-3-1-4. REPETABILITE DE LA METHODE

Tableau XII : Répétabilité de la gamme étalon des solutions de référence de zidovudine

Concentration (mg /mL)	0,220	0,202	0,180
SURFACE	7880918	7331643	6413295
	8023386	7353563	6424671
	7869443	7431048	6516450
	7908112	7338880	6457448
	7856028	7332213	6446174
	8009402	7441135	6446174
MOYENNE	7924548,17	7371413,67	6451915
ECARTYPE	73313,6031	50818,8981	35956,7565
Coefficient de variation	0,92	0,69	0,56

Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs à 2%, valeur généralement admise dans l'analyse quantitative des solutions de référence.

Tableau XIII : Répétabilité d'un échantillon de sirop à 0,2 mg /mL

Concentration (mg /mL)	0,200
SURFACES	7349970
	7202457
	7122768
	7028405
	7113671
	7195967
MOYENNE	7168873
ECARTYPE	109144,202
Coefficient de variation en (%)	1,52

Tableau XIV: Répétabilité de l'ensemble de la procédure de dosage d'un échantillon de sirop

	Moyenne
ESSAI 1	7117329
ESSAI 2	7350116
ESSAI 3	7253355
ESSAI 4	7248912
ESSAI 5	7206673
ESSAI 6	7342321
MOYENNE	7253117,67
ECARTYPE	87154,2591
Coefficient de variation(%)	1,2

Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs à 5%, valeur généralement admise dans l'analyse quantitative des solutions autre que les solutions de référence.

Tableau XV : Répétabilité d'un échantillon de gélule à 0,206 mg /mL

Concentration (mg /mL)	0,206
SURFACES	7353872
	7295390
	7574410
	7297643
	7573609
	7411213
MOYENNE	7417689,5
ECARTYPE	128339,514
Coefficient de variation	1,73

Tableau XVI: Répétabilité de l'ensemble de la procédure de dosage d'un échantillon de gélule

	Moyenne
ESSAI 1	6402512
ESSAI 2	6663286
ESSAI 3	6127235
ESSAI 4	6569615
ESSAI 5	6370597
ESSAI 6	6281829
MOYENNE	6402512,33
ECARTYPE	193539,077
Coefficient de variation	3,02

La répétabilité des solutions de référence (0,22 mg/mL, 0,202 mg/mL, 0,180 mg/mL) a donné des coefficients de variation inférieurs à 2 %. Celle des échantillons à 0,200 mg/mL de sirop, gélule et de l'ensemble de la procédure ont donné des coefficients de variation respectivement inférieurs à 2% à 5 %.

III-3-1-5. EXACTITUDE DE LA METHODE

Tableau XVII : Exactitude de la méthode

Jours	Quantité de substance de référence ajoutée (mg / mL)		surface	Quantité de substance de référence récupérée (mg / mL)	Pourcentage de récupération(%)	Pourcentage moyen de récupération
Jour 1	Q 1	0,02	6668001	0,0192	96,04	96,06
	Q2	0,04	7121233	0,0374	93,52	
	Q3	0,06	8107806	0 ,05922	98,7	
Jour 2	Q1	0,02	6732458	0,01942	97,11	96,05
	Q2	0,04	7048321	0,03698	92,47	
	Q3	0,06	8099681	0,05916	98,59	

Les pourcentages de récupération exprimant l'exactitude de la méthode sont compris entre 90 % et 110 %.

III-3-1-6. SENSIBILITE DE LA METHODE

La limite de détection a été déterminée en réalisant des dilutions successives de la solution mère de référence (mg/mL).

Tableau XVIII : Limite de détection de la Zidovudine

Concentration (mg/mL)	Surface
0,016	584413
0,0032	123303
0,0016	66310
0,00016	7511
0,00008	1587
0,000016	-----

La limite de détection est 0,000016 mg/mL, et la limite de quantification est de 0,00008 mg/mL.

Tableau XIX : Limite de détection de la thymine

Concentration (mg/mL)	Surface
0,00002	1179
0,00001	1257
0,000005	-----

La limite de détection est 0,000005 mg/mL, et la limite de quantification est de 0,00001 mg/mL.

Tableau XX : Limite de détection de la stavudine

Concentration (mg/mL)	Surface
0,00002	2839
0,000005	1331
0,0000025	-----

La limite de détection est 0,0000025 mg/mL, et la limite de quantification est de 0,000005 mg/mL.

III-4 DOSAGE QUANTITATIF DES ECHANTILLONS

III-4-1. DOSAGE QUANTITATIF EN PRINCIPE ACTIF

Tableau XXI : Résultat du dosage quantitatif des sirops

Echantillons (n=30)	A	B	C	D	E
Essai 1	50,50	49,72	47,93	50,35	49,78
Essai 2	47,62	49,31	49,12	49,83	48,91
Essai 3	51,08	51,43	51,36	47,53	48,76
Essai 4	48,76	49,95	48,49	49,42	49,75
Essai 5	50,41	50,49	50,27	50,08	51,08
Essai 6	49,84	50,13	49,77	48,31	46,80
Moyenne	50,70	50,17	49,77	49,25	49,18
Ecart type	3,3	0,73	1,24	1,11	1,43
Quantité de zidovudine déclarée	50 mg				
Intervalle de conformité à 5 %	[47,5 - 52,5]				

Les échantillons présentent tous une teneur dans l'intervalle de conformité.

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

Tableau XXII : Résultat du dosage quantitatif des gélules

Echantillons	H	F	G
Essai 1	100,38	101,52	104,00
Essai 2	101,98	105,46	108
Essai 3	98,80	107,84	104,05
Essai 4	100,90	104,19	102,93
Essai 5	99,63	103,57	109,57
Essai 6	100,01	108,72	108,36
Moyenne	100,28	105,22	106,15
Ecart type	1,09	2,71	2,8
Quantité de zidovudine déclarée	100mg		
Intervalle de conformité à 10 %	[90 - 110]		

Tous les échantillons de gélule ont une teneur conforme à la valeur annoncée.

III-4-2. DOSAGE QUANTITATIF EN SUBSTANCES APPARENTÉES

III-4-2-1. DANS LES SIROPS

TABLEAU XXIII : Dosage quantitatif en substances apparentées des sirops en (%)

		Thymine	Impureté A (stavudine)	Impureté B	Autre pic n°1	Autre pic n°2	Autre pic n°3	Total en impureté
A	E1	0,0714	0,0593	00	$3,2 \cdot 10^{-5}$			0,131
	E2	0,0701	0,0565	00	$6,804 \cdot 10^{-4}$			0,127
	E3	0,0614	0,0533	00	$5,451 \cdot 10^{-4}$			0,115
	E4	0,0588	0,0546	00	$1,745 \cdot 10^{-4}$			0,172
	E5	0,0645	0,0601	00	$6,10 \cdot 10^{-4}$			0,125
	E6	0,0520	0,0560	00	$7,40 \cdot 10^{-4}$			0,108
	Moy	0,0630	0,0566	00	$4,64 \cdot 10^{-4}$			0,130
B27	E1	0,0646	0,0559	00	0,00192			0,1224
	E2	0,0760	0,0533	00	0,0013			0,1306
	E3	0,0363	0,0516	00	$6,82 \cdot 10^{-4}$	0,00252		0,0911
	E4	0,0689	0,0565	00	$5,49 \cdot 10^{-4}$	0,00172		0,127
	E5	0,0541	0,0570	00	$6,402 \cdot 10^{-4}$			0,112
	E6	0,0417	0,0647	00	$5,902 \cdot 10^{-4}$			0,107
	Moy	0,0569	0,0565	00	0,005681			0,115
C	E1	0,0431	0,0655	00	0,001	0,0032		0,1128
	E2	0,0707	0,0574	00	0,0011			0,1292
	E3	0,0495	0,0672	00	$8,37 \cdot 10^{-4}$	0,00178		0,1193
	E4	0,0462	0,0659	00	$3,05 \cdot 10^{-4}$	0,0019		0,1143
	E5	0,0483	0,0675	00		0,0016		0,1174
	E6	0,0669	0,559	00	$8,39 \cdot 10^{-4}$			0,1236
	Moy	0,0541	0,0623	00	0,004081	0,00212		0,1194
D	E1	0,0351	0,0645	00	0,00117	0,00143		0,1022
	E2	0,0355	0,0667	00	$7,34 \cdot 10^{-4}$	0,0017		0,1046
	E3	0,0484	0,0609	00	$5,14 \cdot 10^{-4}$	$4,19 \cdot 10^{-4}$		0,1102
	E4	0,0486	0,0686	00	0,00113	0,0019		0,1203
	E5	0,0431	0,0601	00	0,00108	$7,03 \cdot 10^{-4}$		0,1050
	E6	0,0445	0,0654	00	0,0014	0,0019		0,1132
	Moy	0,0425	0,0644	00	0,001	0,00134		0,1092
E	E1	0,0366	0,0629	00	0,0013	0,0121		0,1129
	E2	0,0386	0,0649	00	0,00138	0,0143		0,1192
	E3	0,0317	0,0522	00	0,0011	0,01		0,095
	E4	0,0389	0,0649	00	0,00131	0,0160		0,1211
	E5	0,0715	0,0562	00	$7,37 \cdot 10^{-4}$	0,00115		0,1296
	E6	0,0373	0,0629	00	0,0016	0,0133	0,0025	0,1176
	Moy	0,0424	0,061	00	0,00124	0,011	0,0025	0,1159

Selon la pharmacopée internationale concernant les substances apparentées, la teneur en thymine doit être inférieure à 3.0%.

Pour les autres impuretés aucune ne doit dépasser 1.0%, et au maximum une seule impureté peut être supérieure à 0,5%.

Le total en impureté y compris l'impureté C doit être inférieur ou égale à 6.0%

Tous les sirops analysés respectent ces normes.

III-4-2-2. DANS LES GELULES

Aucun pic correspondant au pic des impuretés n'a été détecté sur les chromatogrammes des essais.

Les gélules sont donc exemptes des impuretés recherchées à savoir la stavudine, thymine et l'impureté B.

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

III-5. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DES SIROPS

TABLEAU XXIV : Résultat du contrôle microbiologique des sirops

Numéro de lot	Dilution	Nombre de colonies sur les milieux de culture												
		Flore aérobie totale	Recherche des entérobactéries	Recherche des staphylo- ccoques	bacilles pyocyaniques 37°/24H	Recherche <i>d'Escherichia coli</i> 44/24H	Croissance de bactéries	Recherche des coliformes	Isolement et différen- ciation des entéro- bactéries	Recherche de levure et dermatophytes				
										J1	J2	J3	J4	J5
A	10 ⁰						Limpide							
	10 ⁻¹	00	00	00	00	00		00	00			0		0
	10 ⁻²	00	00									0		0
	10 ⁻³	00												
B	10 ⁰				00	00	Limpide							
	10 ⁻¹	01	00	00					00			1		1
	10 ⁻²	00										0		0
	10 ⁻³	00												
C	10 ⁰						Limpide							
	10 ⁻¹	00	00	00	00	00		00	00			1		1
	10 ⁻²	00	00	00								0		0
	10 ⁻³	00	00	00										
D	10 ⁰				00	00	Limpide							
	10 ⁻¹	02	00	00					00			2		2
	10 ⁻²	00										0		0
	10 ⁻³	00												
E	10 ⁰						Limpide							
	10 ⁻¹	02	00	00	00	00		00	00			1		1
	10 ⁻²	01										0		0
	10 ⁻³	00												

Le dénombrement a été réalisé par comptage manuel des colonies caractéristiques de type de bactéries et le référentiel NF08-056 a été utilisé. Les charges de microorganismes sont exprimées en UFC/g (unité formant colonies par g).

$$N = \frac{\sum a}{1,1d}$$

Echantillon A : aucune pousse de microorganisme n'a été notée.

Sur les Echantillon B, C, D et E : on a observé des colonies de levure sur le milieu Sabouraud chloramphénicol.

Echantillon B : N = 9,09 UFC/g

Echantillon C : N = 9,09 UFC/g

Echantillon D : N = 18,18 UFC/g

Echantillon E : N = 9,09 UFC/g

Selon la Pharmacopée Européenne concernant la qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques pour administration par voie orale : pour le dénombrement des germes aérobies viables totaux ; au maximum 10^3 bactéries et 10^2 moisissures et levure par gramme ou millilitre ; et absence d'*Escherichia coli*.

Tous les échantillons analysés sont conformes du point de vue microbiologique.

DISCUSSION

IV-1 CARACTERES GENERAUX

IV-1-1. CONTROLE DE L'ETIQUETAGE

Le contrôle de l'étiquetage des échantillons a permis de relever quelques insuffisances :

- ✓ Seuls les échantillons F et G sur les 8 échantillons portent une inscription montrant l'appartenance de la zidovudine à la liste I des substances vénéneuses.
- ✓ Le mode d'administration n'est pas mentionné sur les conditionnements primaires et secondaires des échantillons de gélules (F, G, H).
- ✓ La durée du traitement est précisée seulement pour les échantillons de gélule F et G.

Ainsi ces insuffisances pourraient engendrer une mauvaise utilisation du médicament par le patient s'ils ne sont pas dispensés par un personnel qualifié.

IV-1-2. CONTROLE DES CARACTERES ORGANOLEPTIQUES

L'étude des caractères organoleptiques n'a révélé aucun signe apparent de dégradation. Tous les médicaments étaient conformes.

Au total, au niveau des caractères généraux le contrôle a montré que tous les échantillons de sirop du fait de l'absence sur les conditionnements de l'appartenance de la zidovudine à la liste I des substances vénéneuses, ne sont pas conformes aux normes.

Les trois autres médicaments (échantillons F, G, et H) du fait des insuffisances relevées au cours du contrôle de l'étiquetage ne sont pas aussi conformes aux normes.

IV-2. CONTROLES GALENIQUE ET BIOGALENIQUES

IV-2-1. CONTROLE GALENIQUE

Régularité de masse des gélules

Les gélules ont une masse individuelle qui appartient respectivement à leur intervalle de conformité.

La régularité de masse des gélules est donc conforme à la norme. Cette conformité rassure sur la qualité de la répartition des poudres au cours du remplissage, dû à une meilleure fluidité des grains.

On se trouve ainsi à l'abri des variations importantes de poids qui pourraient entraîner des variations de dosage (sous ou surdosage) responsables d'échec thérapeutique, de phénomènes de résistance ou d'apparition d'effets secondaires.

Au plan galénique, l'étude a montré que tous les médicaments analysés sont conformes aux exigences.

IV-2-2. CONTROLES BIOGALENIQUES

IV-2-2-1. ETUDE DU DELITEMENT

Les gélules ont un temps de délitement inférieur à la norme de 30 minutes dans l'eau distillée, elles sont donc conformes.

En définitif tous les échantillons analysés ont un temps de délitement conforme à la norme internationale.

IV-2-2-2. ETUDE DE LA DISSOLUTION

L'étude de la dissolution montre qu'au bout de 45 minutes tous les échantillons ont un pourcentage de dissolution supérieure à 75 %.

Ainsi, l'étude biogalénique montre que tous les médicaments analysés sont conformes aux exigences.

Au total, au plan galénique et biogalénique, le contrôle a montré que tous les lots de gélules analysés sont conformes aux exigences.

IV-3. VALIDATION DE LA METHODE

La procédure d'analyse de la zidovudine et de ses substances apparentée dans les sirops dosés à 50mg/5mL validée et adaptée au dosage dans les gélules à 100mg, mise au point permet de séparer, d'identifier et de doser la zidovudine en 15,430 minutes, la thymine en 3,873 minutes, la stavudine en 5,918 minutes et l'impureté B en 19,177 minutes.

Le dosage a été réalisé en système isocratique.

Une étude récente de l'Afssaps réalisée en 2009 sur les sirops de zidovudine donnait un temps de rétention d'environ 12 minutes pour la zidovudine, celui de la thymine d'environ 3,6 minutes, celui de la stavudine d'environ 4,8 et celui de l'impureté B d'environ 14,4min

IV-3-1. LINEARITE DE LA METHODE

Les coefficients de corrélation ($r = 0,9997$) et de détermination ($r^2 = 0,9978$) tendent vers 1.

Les valeurs de ces paramètres attestent une bonne linéarité avec un domaine de linéarité qui s'étend de 0,8mg /mL à 0,12 mg/mL.

IV-3-2. PRECISION DE LA METHODE

La répétabilité de la solution de référence donne des coefficients de variation de 0,92% ; 0,69% et 0,56%, conforme car inférieure à 2% [47].

La répétabilité d'un extrait d'échantillon de sirop donne un coefficient de variation de 1,52% conforme à la norme car inférieur à 2%.

La répétabilité de la procédure pour six prélèvements respectifs d'un même sirop donne un coefficient de variation de 1,2% conforme à la norme car inférieur à 5%.

La répétabilité d'un extrait d'échantillon de gélule donne un coefficient de variation de 1,73% conforme à la norme car inférieur à 2%.

La répétabilité de la procédure pour six prélèvements respectifs d'un même échantillon de gélule donne un coefficient de variation de 3,02% conforme à la norme car inférieur à 5%.

IV-3-3. EXACTITUDE DE LA METHODE

Les pourcentages moyens de récupérations de la méthode (95,53%, 95,81%) sont conformes à la norme car compris entre 90 et 100%.

Nos résultats sont différents de ceux d'OKA Konan qui a rapporté une valeur autour de 99,92 [36].

IV-3-4. LIMITE DE DETECTION DE LA METHODE

La limite de détection pour la zidovudine est de 0,000016 mg/mL (soit 0,016 mg/l).

Celle de la thymine est de 0,000005mg/mL (soit 0,005 mg/l) et pour la stavudine 0,0000025mg/mL soit (0,0025 mg/mL).

En conclusion, les résultats des différents tests de validation appliqués (linéarité, répétabilité, exactitude et sensibilité) étant satisfaisants, ces résultats justifient l'application de cette méthode à la détermination de la zidovudine et de ces substances apparentées.

IV-4 DOSAGE QUANTITATIF DES ECHANTILLONS

IV-4-1. DOSAGE QUANTITATIF EN ZIDOVUDINE

Le dosage a montré que pour les sirops et les gélules :

- les échantillons ont des teneurs en zidovudine qui sont normales car elles appartiennent à l'intervalle de conformité qui est de [90 ; 110] pour les gélules et de [47,5 ; 52,5] pour les sirops.

V-4-2. DOSAGE QUANTITATIF EN SUBSTANCES APPARENTÉES

L'impureté C ou thymine est l'impureté retrouvée en plus grande quantité, dans les sirops, la moyenne qui est de 0,052%, reste conforme à la norme qui est de 3% Selon la pharmacopée internationale

L'impureté A ou stavudine a aussi été retrouvée à une moyenne de 0,05% qui reste conforme à la norme qui est de 0,5%.

L'impureté B n'a été retrouvée dans aucuns échantillons

Les chromatogrammes des échantillons A, B, C, D, et E ont présenté en outre des pics inconnus. Que nous avons noté pic n°1, n°2 et N°3

Le pic n°1 était présent dans tous les échantillons de sirops, on peut supposer qu'il s'agit peut être d'interférence d'excipient.

Le pic n°2 était persistant au niveau des échantillons D et E.

Nous avons donc un profil différent pour un même fabricant d'où l'intérêt de la recherche de substances apparentées.

Le pic n°3 a été retrouvé qu'au niveau de l'échantillon E. qui était celui dont la péremption était proche. Nous pouvons supposer qu'il s'agit peut être de produits de dégradations.

Dans les gélules, il y avait aucune trace des substances apparentées.

MARIA et coll. dans leurs travaux sur l'étude de la stabilité des gélules de zidovudine 100 mg en 2006 ont fait le même constat. Leur chromatogramme n'a présenté aucune interférence des excipients ni des solvants [29].

Le total en impureté reste néanmoins conforme à la norme.

IV-5. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE

Aucun sirop ne présente de contamination microbienne. La présence de sucre dans le milieu n'est pas favorable à la croissance bactérienne.

Tous les échantillons sont conformes à la norme de la Pharmacopée Européenne.

Contrôle de qualité de formes orales de zidovudine :
recherche, identification et dosage du principe actif et des substances apparentées

Il ressort de ce contrôle qualité que ces médicaments ARV que nous avons étudiés sont de qualité microbiologique satisfaisante. Une étude similaire avait été réalisée en 2005 sur des médicaments ARV par L'Agence Française de Sécurité du médicament et des Produits de Santé (AFSSAPS) et les conclusions avaient montré que tous les produits testés étaient conformes.

RECOMMANDATIONS

Assurer la qualité des médicaments exige un véritable engagement des pouvoirs publics. La bonne qualité du produit pharmaceutique dépend de la mise en place d'un cadre institutionnel et réglementaire adapté et de la capacité de les faire appliquer.

Au terme de notre étude, nous pouvons formuler les recommandations suivantes :

AU MINISTERE DE LA SANTE

- Renforcer les capacités de l'autorité nationale de réglementation (DPM) et du Laboratoire National de la Santé Publique pour assurer la surveillance et le contrôle systématique des médicaments commercialisés en Côte d'Ivoire.

A LA DPM

Prendre en compte la conformité des caractères généraux dans le processus d'évaluation des dossiers de fabricants

AU LNSP

- Rechercher et identifier les substances apparentées dans les médicaments soumis à analyse et devant être commercialisés sur le territoire ivoirien



CONCLUSION

L'étude réalisée a permis le contrôle de sirops de zidovudine 50mg/5mL et zidovudine 100 mg gélules présents sur le marché ivoirien. Ce contrôle a porté sur l'étude des caractères généraux, l'étude analytique, l'étude galénique, biogalénique et microbiologique.

Au niveau analytique, les paramètres de validation déterminés ont montré que la méthode peut être appliquée au dosage qualitatif et quantitatif de la zidovudine et de ses substances apparentées dans les médicaments. Ainsi, le dosage de ces échantillons a révélé que tous restent conformes aux normes européennes.

En outre, le contrôle galénique atteste que tous les médicaments sont conformes aux exigences. Quant aux études biogaléniques, elles aussi ont révélé que tous les échantillons analysés sont conformes aux exigences de la Pharmacopée Européenne.

En outre les contrôles microbiologiques ont démontré que les sirops de zidovudine sont conformes aux normes de la Pharmacopée Européenne.

L'étude des caractères généraux a montré que sur les huit produits testés, deux seulement sont conformes aux normes européennes.

Au total, les médicaments à base de zidovudine distribués en Côte d'Ivoire et analysés au cours de notre étude contiennent tous le principe actif et les limites en impuretés sont respectées.

Cependant il demeure des infractions qu'il importe de relever telles que l'étiquetage inadéquat qui pourrait avoir des conséquences sur l'utilisation de ces produits. De ce fait, toutes les mesures réglementaires doivent être mises en œuvre pour garantir la santé des populations.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Ahuja S.**
Impurities evaluation of pharmaceuticals .Marcel Dekker. New York 1998, p.142
2. **American public Health Association, INC., Washington D.C**
Standard methods for the examination of water and wasterwater,15th Ed. **1980**
3. **Antiretroviral drugs**
For treating pregnant women and preventing HIV infection in infants in resource-limited settings towards universal access. World Health Organization. Geneva, 2006.
4. **Brossard D.**
Les formes solides : Analyse pratique du médicament, Cachan (France) : Med. Int, 2002 : 964-970 p
5. **Caporal J., Nivet J.M., Beatemps R. et Al**
Validation Analytique, commentaire sur la note explicative européenne et exemple d'application.
STP Pharma Pratiques, 1990, 6, (8) :588-592p
6. **Chirouze C, Hoen B.**
Surveillance du patient sous traitement antirétroviral. Rev. Prat. 2006, 56 (9) : 966-975p.
7. **Côte d'Ivoire. Ministère de La Lutte Contre Le Sida**
Directives pour la prise en charge des PVVIH .Abidjan : Ministère de la Sante et de la Lutte Contre le Sida 2012.
8. **De Cock K.M., Fowler M.G., Mercier E., et al.**
Prevention of mother –to-child HIV transmission in 110-poor countries:translating research into policy and practice,JAMA.2000;283(9):1175-82p
9. **Dedy S, Tape G.**
Comportement sexuel et SIDA en Côte d'Ivoire. Abidjan : CNLS, 1989. 130p
- 10.**Dedy S, Tape G.**
Jeunesse, sexualité et SIDA en Côte d' Ivoire. Paris : Orstom, 1995 : 83-87p.
- 11.**Dunn D., Newel M. I, Ades A. E., et al**
Risk of human immunodeficiency virus type 1 transmission through beastfeeding. Lancet.1992;340(8819):585-8p

12. **Futura-Sciences.**
Sidaction 2004 : Le VIH a 21 ans. (Consulté le 08/10/2010). « [http :
//www.futura-sciences.com](http://www.futura-sciences.com) »
13. **Association des Professeurs de Pathologie Infectieuse et Tropicale. Paris**
Infection à VIH et SIDA, Maladies infectieuses et tropicales. 17^e éd. Paris : 2000,
(77) : 396-412p.
14. **Barre Sinoussi F.**
Les virus : rappel virologique. Guide du SIDA. Les dossiers du praticien. Paris :
Groupe Impact Médecin, 2001. 699p
15. **Barre Sinoussi F.**
Virologie fondamentale de l'infection à VIH. 2004 : 7-8p.
16. **Bissagnene E., Die-Kakou H., Ahoussi E. F. et al.**
Guide diagnostique et thérapeutique de l'infection à VIH en Afrique. Abidjan :
GUR, 1999 : 30-37p.
17. **Snv.jussieu .**
Dossier : Le virus du SIDA de Gilles Furelaud avec la collaboration de Benjamin
Pavie (Oncologie Virale UPR 9045 CNRS, Institut A. Lwoff, Villejuif 2006.
(Consulté le 08/10/2010) <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/SIDA/2struct.htm>
18. **Galzy P., Guiraud J.**
L'analyse microbiologique dans les industries agroalimentaire.
Edition de l'usine nouvelle, 2003 : 233p.
19. **Guyot-Hermann A.**
Solvants résiduels et procédés de fabrication.
STP Pharma Pratiques.1991(1) : 258-266p.
20. **Historique du SIDA.**
2001. 20 juin 2007 (consulté le 8/10/2010)
<[http : //www.hiv-sida.com/historique.shtml](http://www.hiv-sida.com/historique.shtml)>
21. **Harmonized Tripartite Guideline:**
International Conference of Harmonization of Technical requirements for the
registration of pharmaceuticals for human use.

- 22.J. de Graeve, F. Berthou, M. Prost.**
Méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse. Editions Masson, Paris, 1986.
- 23.Jacomet C.**
Guide de l'infection à VIH. Impact médecin 2002 : 19p
- 24.Julien Deschamps**
Qualification des sources d'approvisionnement en médicament essentiel générique. Application aux pays en développement.th.Pharm. : Lyon 1,2005. 185p
- 25.Koblavi-Deme S., Maurice C., Yavo D. et Al.**
Sensitivity and specificity of human immunodeficiency virus rapid serologic assays and testing algorithms in antenatal clinic in Abidjan, Ivory Cost. J Clin Microbiol. 2001, 39 (5): 1808-1812p.
- 26.Lambert H. F, Shurvell D. A, Lightner and R. G. Cooks.**
Organic Structural Spectroscopy. Prentice-Hall Inc., 1998.
- 27.Le Coeur S, Kanshana S, Jourdain G.**
HIV-1 transmission from mother to child and its prevention.med trp.2003; 63(4):381-90p.
- 28.Lefebvre-Ringard C, Guyot-Hermann A, Bouche R. et Al.**
Répercussion de l'augmentation de solubilité de surface de particules sur leur aptitude à la granulation humide. STP Pharma,(6)1990 : 228-232 p.
- 29.Maria Inès, Santoro R. M., Andreia M.et Al**
Stability-indicating methods for quantitative determination of zidovudine and stavudine in capsule .quimica nova ,vol.29 n°2 sao Paulo march/april 2006
- 30.Miooti P., Taha T., Kumwenda N. et al.**
HIV transmission through breastfeeding : a study in Malawi.JAMA.1999;282(8):744-9
- 31.Montagnier C., Pradier F.**
Disposition réglementaire en matière d'étiquetage des matières premières et produits finis. Analyse pratique du médicament. Cachan (France) : Ed. Med. Int.2002.964-970 p.

32.Oka Konan J.

Mise au point d'une procédure d'analyse simultanée de la zidovudine, la lamivudine et la névirapine par chromatographie liquide haute performance : application aux spécialités pharmaceutiques.110p. Thèse pharmacie : Abidjan, 2004.

33.OMS, ONUSIDA. Genève.

Le point sur l'épidémie de SIDA. Genève : OMS, 2007 : 52p

34.OMS/ONUSIDA. Genève.

Rapport sur l'épidémie mondiale de sida 2010 :8-23p

35.OMS/ONUSIDA. Genève.

journee mondiale sida .Genève : ONUSIDA 2011

36. OMS /ONUSIDA. Genève

Rapport sur l'épidémie mondiale de sida 2012

37.Pharmacopée Européenne

6^{ème} éd. Strasbourg : Tome 1, 2 ,2008

38.Pharmacopée Européenne

6^{ème} éd. Strasbourg : Tome 1, 5, 2008.

39.Pharmacopée Européenne

6^{ème} éd. Strasbourg : tome1 2008 : 3473-3474p

40.Pharmacopée Française

10^{ème} éd. V. 5. 1 et V. 5. 2. Paris : Masson, 1983.

41.Pierre-Marie G., Christine K., Gilles P.et Al

health and fitness 2007,44:567-570

42.Pierre- Antoine Bonnet.

Contrôle de qualité des médicaments antirétroviraux. AFSSAPS

43.Pradeau D., Laurencon-Courtelle F.

L'assurance qualité en matière de préparation et d'analyse du médicament.
1 'analyse pratique du médicament, Ed. Med. Int, 2002 :45-50p.

44.Prognon P., Lebel A.V., Tauburet A.M.

Démarche méthodologique en analyse pharmaceutique.

L'analyse pharmaceutique du médicament. Cachan (France) : Ed. Med. Int.2002 :66-114 p.

45.Rabiant J.

Fixation des limites en solvants résiduels. Rôle de l'expert analyste.
Annales Pharmaceutiques Françaises,1984 (42) : 503-508p

46.Robertson D. L., Anderson J. P., Bradac J. A., et Al.

HIV-1 Nomenclature proposal. Science. 2000, 288 : 55-57p

47.Rosset R., Caude M., Tardy A.

Chromatographie en phase liquide et supercritique.Ed : Masson, Paris, 1991

48.Roy J., Mahmud M., Sobhan A., et Al

Marketed vitamin B-complex injectables: stability and mutual interaction. Drug Dev Ind Pharm 1994: 20(13) :2157p

49.Seronet ARVde bone qualité, (page consulté le 14 mars 2011)

<[http:// www.seronet.info](http://www.seronet.info)>

50.Stéphane Piot

Médicament essentiel multi source: étude de la stabilité en conditions réelles.121p.Th .Pharm : clermont 1,1997.

51.NF EN ISO 6888-1 et 2: Microbiologie des aliments-Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (staphylococcus aureus et autre espèces) 1990

52.NF ISO 4832.

Microbiologie-Directive générales pour le dénombrement des coliformes-Méthode par comptage des colonies.1991

53.NF V 08-10 : Directives générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique, juin1982

54.Ochin D., Simon F., Catteau M.

nouvelle méthode rapide de recherche et dénombrement d'Escherichia coli dans les produits alimentaires. Paris-Colloque Société Française de Microbiologie.28-avril 1993

55.Taylor W.I., Schelhauts D.

Appl.Microbiol. 1971; 21 :32-37p

56. The International Pharmacopeia

Fourth edition; Geneva: 2008

57. The Working Group on Mother-to-Child Transmission of HIV.

Rates of mother-to-child transmission of HIV-1 in Africa, America, and Europe: results from 13 perinatal studies.

J Acquir. Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 1995; 8(5):506-10p.

58. Unicef

qualité des ARV. (page consultées le 14 mars 2011)

<[http : www.unicef.org](http://www.unicef.org)>

59. USP/N

The official compendia of standards, vol 3, 2008

60. Wondemagegnehu E.

Counterfeit and substandard drugs in Myanmar and Vietnam.

Geneva, Switzerland WHO, 1999.

61. World Health Organization.

Substandard and counterfeit medicines.

Fact sheet N°275, 2003. « <http://www.who.int/mediacentre/factsheet/fs275> »

[mise à jour 16/10/2005] consulté 11/11/2010