

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République du Mali
Un Peuple - Un But – Une Foi



U.S.T.T-B



**UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO
FACULTE DE PHARMACIE**

Année universitaire: 2021-2022

Thèse N°

THESE

**ANALYSE DES PARAMÈTRES PHYSICO-
CHIMIQUES DES ANTITUBERCULEUX AU
LABORATOIRE NATIONAL DE LA SANTÉ(LNS)**

Présentée et soutenue publiquement le / /2023

Devant la Faculté de Pharmacie par

M. Mamadou Nouhoum OUATTARA

**Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'État)**

JURY

Président : Pr Elimane MARIKO

Membres: Dr Mamadou BADIAGA
Dr Ousmane DEMBELE

Co-directeur: Dr Mody CISSE

Directeur : Pr Benoit Yaranga KOUMARE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE.

ADMINISTRATION :

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH, Professeur

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Inspecteur des Finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
4	Souleymane	DIALLO	Bactériologie/Virologie
5	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
6	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
7	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
8	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
9	Alou A.	KEÏTA	Galénique
10	Mamadou	KONE	Physiologie
11	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
12	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
13	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
14	Saïbou	MAÏGA	Législation
15	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
16	Sékou Fanta Mady	TRAORE	Zoologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie/Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé publique
6	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie/Mycologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie/Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Santé publique/Nutrition
9	Ousmane	KOITA	Biologie moléculaire
10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie/Microbiologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie/Virologie
2	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
3	Kassoum	KAYENTAO	Santé publique/Bio-statique
4	Bourèma	KOURIBA	Immunologie Chef de DER
5	Issaka	SAGARA	Bio-statique
6	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statique
7	Ousmane	TOURE	Santé publique/ Santé environnementale

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed A	AG BARAIKA	Bactériologie/Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biologie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biologie clinique
6	Antoine	DARA	Biologie moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie/Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie microbienne
10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie/Virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique
16	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Bactériologie/Virologie
17	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé publique/Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEÏTA	Santé publique/Santé environnementale
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie/Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Feu Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Saïbou	MAÏGA	Législation
3	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
8	Moussa	SANOGO	Gestion
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie analytique Chef de DER
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOUCO	Chimie analytique
4	Fatoumata	DAOUCO	Pharmacologie
5	Abdourahmane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie Chef de DER
2	Cheick F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
3	Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCE/MAITRE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Lassana	Doumbia	Chimie appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique/Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie organique
4	Massiriba	KONE	Biologie/Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Adourahamane	COULIBALY	Anthropologie médicale
4	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Modibo	DIARRA	Nutrition
7	Moussa I.	DIARRA	Biophysique
8	Babacar	DIOP	Chimie
9	Atimé	DJIMDE	Bromatologie
10	Yaya	KANE	Galénique
11	Boubacar	KANTE	Galénique
12	Aboubakary	MAIGA	Chimie organique
13	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
14	Modibo	SANGARE	Anglais
15	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie/Embryologie
16	Mme Fatoumata	SOKONA	Hygiène du milieu
17	Fana	TANGARA	Mathématiques
18	Abdel Kader	TRAORE	Pathologie Médicale
19	Djénébou	TRAORE	SEMIOLOGIE/Pathologie Médicale
20	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

Ce document est le fruit d'un long travail, qui n'aurait pu voir le jour sans la volonté de Dieu et le concours de mes parents et proches.

Je dédie ce travail à l'éternel ALLAH, mon DIEU, le Tout Puissant, l'Omniscient, l'Omnipotent, l'Omniprésent, mon soutien sans faille, mon repère, ma source d'inspiration, C'est Lui qui descend sur mes pensées, sur mes mots, sur mes actions, sans Qui rien n'aurait été possible.

Je rends Grace à Dieu, Clément et Miséricordieux pour nous avoir permis de mener à bien ce travail et pour nous avoir assisté en toutes circonstances et en tous lieux.

Mon DIEU, mon âme est pleine de reconnaissance et mes lèvres remplies de Ta louange.

A mes parents,

Merci pour la vie que vous m'avez donnée, pour l'éducation que j'ai reçue de vous, pour l'amour, la prière, le goût du travail bien fait. Merci à vous de m'avoir toujours soutenu et mis dans les conditions morales et matérielles qui ont facilité ma réussite scolaire, universitaire et mon entrée dans la vie professionnelle. Je ne pourrai vous rendre mieux tous les sacrifices consentis pour moi si ce n'est qu'en vous rendant fiers chaque jour. Je promets d'être digne de vous en continuant d'être votre fierté. Que Dieu vous bénisse en abondance.

Spécialement à mon père,

Monsieur **Nouhoum OUATTARA**, les mots me manquent pour te témoigner toute ma reconnaissance. Tu as toujours donné le meilleur de toi pour tes enfants. Quand il s'agit de notre formation et de notre éducation tu as été présent et tu continues de l'être. Je n'oublierai jamais toutes les expressions de ton amour pour moi à travers un sourire, un regard, un mot, pour me signifier ton encouragement et ton soutien. Ce travail, ce jour, est le fruit de tous les sacrifices que tu as consentis. Comme tu as l'habitude de le dire << C'est en vous mes enfants que je suis un grand homme >> .Je prie Dieu de me donner l'opportunité de te rendre un jour, cette joie que tu m'as donnée. Merci papa, merci mon premier ami ! Tout l'honneur te revient.

Spécialement à ma mère, mon trésor sur terre,

Madame OUATTARA Barkissa KONE, affable, honorable etc...

Maman, tu es pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement. Merci de m'avoir donné la vie, merci pour ta patience, ton attention et ta persévérance à mon égard, je ne saurais comment te remercier après tant d'efforts et d'inquiétudes pour tes enfants. Tes prières et bénédictions, ton amour, m'ont été

d'un grand secours pour mener à bien mes études. La réussite de ce travail est aussi due à l'éducation et au courage dont tu as fait preuve envers moi. Tu n'as jamais cessé de m'encourager. Merci est un vain mot pour reconnaître ton investissement en ma personne.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessés de faire pour moi depuis ma naissance jusqu'encore à nos jours. Tu as fait ce qu'une mère puisse faire afin que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Allah honorer la grande dame et mère exceptionnelle que tu es. Que Dieu te garde encore longtemps près de nous.

Spécialement à mes petits frères et ma sœur,

Abibata, Abdoulaye, Souleymane, Oudou, Drissa, Maimouna, Lassina, Dramane, Awa, Aichata, Seydou et Adiaratou OUATTARA, merci pour votre manifestation incessante d'amour. J'espère avoir été et continué d'être un exemple pour vous. Je serai toujours disponible pour vous soutenir du mieux que je pourrai. Puisse Allah vous guider et vous bénir afin que vous fassiez la fierté de nos parents.

A toute ma famille (frères et sœurs, cousins et cousines, neveux et nièces),

Vous qui m'avez vu grandir et vous que j'ai vu naître, sachez que la cohésion de notre famille est le résultat de l'amour qui y règne. Soyez fiers de vous-mêmes et continuez sur la voie tracée par nos parents.

REMERCIEMENTS

A la Famille Diarra,

Cher oncle, Dieu m'a fait la grâce de vous avoir pour second parent. Vous m'avez ouvert la porte de votre maison et avez cru en moi. Vous m'avez soutenu dans les moments difficiles, votre affection et votre soutien m'ont été d'une grande importance. Vos félicitations et encouragements m'ont aidé à tenir bon pendant toutes ces études. Merci infiniment pour tout. Puissiez-vous accepter ce travail comme l'expression de ma gratitude et de mon amour pour vous. Que Dieu vous garde et vous accorde une longue vie.

A mes amis,

Ibrahima Danioko, Balla Diarra, Daouda Berthé, Abdoulaye Coulibaly, Youssouf Berthé, Hamidou N'Diaye, REBECA Vanessa, Koudeidia MAIGA, Abdallah Coulibaly, Mariam Sogodogo, Dramane Sogodogo, Mohamadou Sangaré, Arouna Danioko, Gangaly DIALLO,

Mahamadou Bamba, Bakary Coulibaly, Ali Dolo, Sina Diallo, votre soutien, votre conseil, m'ont aidé à continuer d'espérer en la vie. Merci pour tout. Que Dieu vous garde.

A mon beau-frère,

Dr BAMBA Mahamadou, en plus d'être un aîné académique, Dieu a fait de toi plus qu'un frère, un conseiller pour moi, avant que le destin en décide. Je ne saurais dire ici tout ce que vous avez fait pour moi. Merci pour tout.

A mes camarades de la promotion du Professeur Mamadou KOUMARE,

Je vous dis encore merci pour votre courage, votre persévérance et surtout pour votre soutien dans les peines partagées. Le parcours n'a pas été facile. Qu'Allah nous assiste.

Au Laboratoire National de la Santé,

Merci du fond du cœur à tout le LNS en sa tête, le Professeur Benoit Yaranga KOUMARE de m'avoir ouvert les portes de votre laboratoire et de m'avoir guidé dans la réalisation de mon travail. Je tiens à remercier également les pharmaciens, les techniciens et les stagiaires du Laboratoire dont la disponibilité et la franche collaboration ne m'ont jamais fait défaut.

Particulièrement le service de contrôle de qualité des médicaments avec à sa tête Docteur Ousmane DEMBELE,

Merci pour votre gentillesse, votre disponibilité et vos encouragements. Merci pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble. Vous m'avez accueilli dès le premier jour de mon stage. Tout le processus d'analyse de cette étude a été possible grâce à votre disponibilité et collaboration. Plus qu'un cadre de travail, vous m'avez assisté comme cela se doit dans une famille. Les mots me manquent pour vous témoigner ma profonde gratitude. Merci infiniment, que Dieu vous récompense.

A mes camarades thésards et stagiaires du LNS,

Aucun mot ne saurait exprimer la joie qui m'anime depuis que je vous ai rencontré. Plus que des collègues, vous êtes pour moi des frères et sœurs. Je prie Dieu qu'il nous accorde longue vie pour réaliser nos rêves tout en nous épargnant des méchancetés de la vie. Je vous remercie pour tout le soutien et les conseils que vous m'avez apportés durant ce travail.

A tout le personnel de la pharmacie PIETE, en sa tête Dr Sory DIALLO

Heureux, placide, joyeux, tels sont les caractéristiques de mon état d'âme en m'adressant à vous. Nous formions une équipe ; cependant vous êtes aussi pour moi une deuxième famille.

Vos suggestions et vos conseils ont été un apport considérable pour la réalisation de ce travail. Trouvez ici l'expression de mes remerciements pour avoir contribué à faire de moi ce que je suis.

A tous mes enseignants,

De l'école primaire à l'Université, vous avez tous contribué à ma formation en m'éduquant, en me conseillant et en me dispensant des enseignements de qualité qui ont porté ce fruit.

Je vous en serai toujours reconnaissant et soyez-en remerciés.

Merci pour la qualité de la formation.

- **Merci pour ceux qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail,**
- **Merci à tous ceux pour qui j'ai de la sympathie et que j'ai oublié de citer.**

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et président du jury :

Professeur Elimane MARIKO

- **Professeur titulaire en Pharmacologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie ;**
- **Premier Pharmacien militaire au Mali ;**
- **Colonel-major des forces armées maliennes / à la retraite ;**
- **Ancien chef de DER des sciences du médicament ;**
- **Ancien coordinateur de la Cellule Sectorielle de Lutte contre le VIH/Sida au Ministère de la Défense et des Anciens Combattants.**

Honorable maître,

Permettez-nous de vous remercier pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre thèse malgré vos multiples obligations.

Nous avons admiré vos qualités scientifiques, pédagogiques et humaines. En espérant que cet humble travail saura combler vos attentes,

Veillez accepter cher maître, nos sentiments d'estime, de respect et de reconnaissance.

A notre maître et juge :

Docteur Mamadou BADIAGA

- **Docteur en Chimie Organique ;**
- **Maître de conférences en Chimie Organique et Substances Naturelles à l'Institut des Sciences Appliquées (ISA)**
- **Sous-Directeur des laboratoires à la Direction Générale de la Police Technique et Scientifique du Mali (DGPTS)**
- **Membre de la Société Savante "SOACHIM" (Société Ouest Africaine de Chimie)**

Cher maître,

En acceptant de siéger à ce jury, vous nous faites honneur.

Votre probité au travail, votre dynamisme et votre sens de responsabilité nous ont toujours impressionnés et sont pour nous un idéal à atteindre.

Nous avons été marqués par votre grandeur d'âme, votre disponibilité constante sans oublier vos qualités scientifiques remarquables.

Trouvez ici, cher maître notre plus haute considération.

A notre maître et juge :

Docteur Ousmane DEMBELE

- **Maître-assistant en Chimie Thérapeutique à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Chef de Service de Contrôle Qualité des Médicaments au Laboratoire National de la Santé.**

Cher maître,

Malgré vos multiples occupations, vous avez accepté de porter un regard critique sur notre travail.

Votre abord facile, vos qualités humaines et intellectuelles ainsi que votre disponibilité extrême font de vous un maître respectable.

Soyez assuré cher maître de notre profonde gratitude.

A notre maître et co-directeur de thèse :

Docteur Mody CISSE

- **Maître-assistant en Chimie Thérapeutique à la Faculté de Pharmacie,**
- **Chef de Service de la scolarité à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Membre de l'association de la Société Ouest Africain de Chimie (SOACHIM).**

Cher maître,

Nous avons eu le privilège de vous avoir comme codirecteur et avons trouvé auprès de vous le guide et le conseiller en toutes circonstances avec sympathie, sourire et bienveillance.

Nous ne saurions jamais trouver assez de mots pour vous témoigner notre reconnaissance.

Homme de grandes qualités scientifiques, nous avons été séduits par la simplicité, la clarté et la rigueur de vos enseignements.

En plus de vos connaissances scientifiques, votre sens social de la vie mérite le respect.

Permettez-nous de vous réitérez l'expression de notre reconnaissance et de notre admiration.

A notre maître et directeur de thèse :

Professeur Benoit Yaranga KOUMARE

- **Professeur Titulaire de Chimie Analytique/Bromatologie à l'USTTB ;**
- **Chef de DER des sciences du médicament à la FAPH ;**
- **Directeur Général du Laboratoire National de la Santé ;**
- **Spécialiste en Assurance Qualité et Contrôle Qualité des Médicaments/ en Pharmacothérapie (prescription rationnelle des médicaments) et en Neuropharmacologie ;**
- **Expert-Analyste et pharmacologue au sein de la Commission Nationale d'Autorisation de Mise sur le Marché des Médicaments au Mali (CNAMM) ;**
- **Expert-Qualité du Comité Régional du Médicament Vétérinaire au sein de l'UEMOA ;**
- **Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM) ;**
- **Vice-Président du Forum pour la Qualité des Médicaments en Afrique (AMQF) au sein de l'Union Africaine ;**
- **Médaille, Chevalier du Mérite de la Santé au Mali.**

Honorable maître,

Nous tenons à vous déclarer avec honneur nos remerciements les plus sincères pour avoir accepté de diriger ce travail et avoir vérifié à son élaboration avec patience et disponibilité malgré vos multiples responsabilités.

Votre bonté humainement appréciée ainsi que vos compétences professionnelles n'ont cessé de susciter notre grande admiration.

Puisse ce travail être à la hauteur de vos attentes.

Veillez trouver ici, l'assurance de notre gratitude et de votre estime.

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACN	: Acétonitrile
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
ARN	: Acide ribonucléique
BCG	: Bacille de Calmette et Guérin
BDQ	: Bédaquiline
BK	: Bacille de Kock
BPF	: Bonne Pratique de Fabrication
CEPCM	: Centre Européen de Prévention et de Contrôle des Maladies
CSLS-TBH	: Cellule Sectorielle de Lutte Contre le Sida-Tuberculose et les Hépatites
DOT	: Traitement sous Observance Direct
Ech	: Echantillon
EMB	: Éthambutol
EPST	: Etablissement Public à Caractère Scientifique et Technologique
HPLC	: Hight Performance Liquid Chromatography (CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance)
H₂O	: Eau
IDR	: Intradermoréaction
INH	: Isoniazide
ITL	: Interféron Tuberculeuse Lente
K	: Facteur de Rétention
Kg	: kilogramme
LNS	: Laboratoire National de la Santé
LNS-EPST	: Laboratoire National de la Santé- Etablissement Publique à Caractère Scientifique et Technologique
MDR	: Multi-Drug Resistant
Mg	: milligramme
MeOH	: Methanol
MT	: Mycobacterium Tuberculosis
NAD	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADPH	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
nm	: Nanomètre
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé

PA	: Principe Actif
pH	: potentiel Hydrogène
PNT	: Politique Nationale de Lutte Contre la Tuberculose
PPM	: Pharmacie Populaire du Mali
PZA	: Pyrazinamide
Rf	: Rapport Frontal
RMN	: Résonance Magnétique Nucléaire
RMP	: Rifampicine
SCQM	: Service de Contrôle Qualité des Médicaments
STD	: Standard
TB	: Tuberculose
TB-MDR	: Tuberculose Multi résistance
TOD	: Traitement Sous Observance Directe
UV	: Ultraviolet
VIH	: Virus de l'Immunodéficience Humaine

TABLE DES MATIERES

I.INTRODUCTION	1
OBJECTIFS	4
OBJECTIF GENERAL	4
OBJECTIFS SPECIFIQUES	4
II.GENERALITES	6
A. Rappel sur la tuberculose.....	6
1. Histoire de la tuberculose	6
2. Définition de la tuberculose.....	7
3. Mycobacterium.....	8
4. Physiopathologie	8
5. Prise en charge de la tuberculose.....	10
6. Les différentes classes thérapeutiques	12
7. Suivi du traitement.....	28
B. METHODES ET TECHNIQUES DE CONTROLE DE QUALITE DES MEDICAMENTS.....	30
1. La Notion de qualité des médicaments	30
2. Bonnes Pratiques de Fabrication des produits pharmaceutiques (B.P.F)	30
3. Autorisation de mise sur le marché	30
4. Techniques d'analyses utilisées	31
4-1. Contrôle organoleptique ou visuel	31
4-2. Essais.....	31
4-2-1. La masse moyenne.....	31
4-2-2. Volume moyen.....	32
4-3. Test de désagrégation	32
4-4. Le test de dissolution.....	32
4-5. Détermination du pH.....	33
5. Identification.....	33
5-1. Tests colorés.....	33
5-2. Chromatographie sur Couche Mince.....	33
5-3. Spectrophotométrie UV-visible.....	36
5-4. Dosage chimique par titration	39
5-5. Dosage par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance).....	39
III) METHODOLOGIE.....	44
1. Type et période d'étude	44

2. Lieu d'étude.....	44
3. Echantillonnage	48
4. Les matériels.....	48
5. Méthodes d'analyses.....	49
5-1. Examen visuel ou contrôle des caractères organoleptiques	49
5-2. Détermination de la masse moyenne.....	49
5-3. Test de désagrégation.....	49
5-4. Identification du principe actif.....	50
5-4-1. Identification par chromatographie sur couche mince.....	50
5-4-2. Identification dans le domaine ultra-violet (UV/Visible)	53
5-5. Identification et dosage par CLHP.....	54
IV. RESULTATS	60
1- Répartition des échantillons par secteur de prélèvement	60
2- Répartition des échantillons par molécule (Principe actif)	61
3- Résultats de l'examen visuel et contrôle des caractères organoleptiques	62
4- Résultats de l'uniformité de masse.....	63
5-Résultats du test de désagrégation.....	64
6-Résultats de la Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	65
7- Spectroscopie UV-Visible.....	70
8-Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).....	71
V. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	82
1. Secteur de prélèvement et principes actifs	82
2. Inspection physique et visuelle.....	82
3. Uniformité de masse	83
4. Test de désagrégation	83
5. Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	83
6. Spectrophotométrie UV-Visible	83
7. Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).....	84
VI. CONCLUSION.....	86
VII. RECOMMANDATIONS	88
VIII. RÉFÉRENCES	90
FICHE SIGNALÉTIQUE	95
Résumé.....	95

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Histoire naturelle simplifiée de la tuberculose.....	7
Figure 2: Structure de l'agent pathogène	8
Figure 3: Structure chimique de l'isoniazide.	13
Figure 4: Mécanisme d'action de l'isoniazide	14
Figure 5: Métabolisme de l'isoniazide.....	14
Figure 6: Pharmacomodulation de l'Isoniazide en Thionamides (Ethionamide, Prothionamide).....	15
Figure 7: Structure chimique de la rifampicine.....	17
Figure 8 : Pharmacomodulation de la Rifamycine B à la Rifamycine SV.....	18
Figure 9 : Pharmacomodulation de la Rifamycine SV en Rifampicine.	19
Figure 10 : Pharmacomodulation de la Rifampicine à la Rifapentine.....	19
Figure 11 : Pharmacomodulation de la Rifamycine SV à la Rifabutine.....	20
Figure 12: Structure chimique de l'éthambutol.	21
Figure 13 : Eléments structuraux d'activité de l'Ethambutol.....	22
Figure 14 : Structure chimique du pyrazinamide.	23
Figure 15: Pharmacomodulation de l'isoniazide conduisant au pyrazinamide	24
Figure 16: Structure de Kanamycine.....	25
Figure 17: Structure de Delamanid.	26
Figure 18: Structure chimique de la bédaquiline.....	26
Figure 19 : Profil chromatographique d'une plaque CCM.....	34
Figure 20: Schéma d'un spectrophotomètre à double faisceau	37
Figure 21 : Monochromateur à réseau.....	38
Figure 22 : Dosage chimique (titration)	39
Figure 23 : Principe de fonctionnement d'un appareil HPLC	40
Figure 24 : Organigramme général du Laboratoire National de la Santé.....	46
Figure 25: Temps de désagrégation des échantillons analysés en 2021	64
Figure 26 : Temps de désagrégation des échantillons analysés en 2022.....	64
Figure 27 : Plaque CCM de RMP-INH 21-01 Figure 28 : Plaque CCM de PZA-EMB 21-01	65
Figure 29 : Plaque CCM d'INH	65
Figure 30 : Plaque CCM de PZA Figure 31 : Plaque CCM d'EMB	66
Figure 32: Spectre d'identification de pyrazinamide par spectrophotométrie UV-Visible.....	70

Figure 33: Chromatogrammes du standard (a) et d'un échantillon (b) du code N° 21-01 74

Figure 34: Chromatogrammes du standard (a) de RMP et d'un échantillon (b) du code N°21-01 75

Figure 35: Chromatogrammes du standard (a) et d'un échantillon (b) du code N° 21-07 76

Figure 36: Chromatogrammes du standard(a) et d'un échantillon(b) du code N°21-07 77

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Groupes de médicaments utilisés	12
Tableau II: les instruments d'analyses, les réactifs/solvants et les appareils utilisés	48
Tableau III: Répartition des échantillons par secteur de prélèvement	60
Tableau IV: Répartition des échantillons en fonction du principe actif	61
Tableau V: Résultats de l'examen visuel des échantillons	62
Tableau VI: Résultats de l'uniformité de masse des lots d'échantillon d'antituberculeux.....	63
Tableau VII: Résultat du test de CCM : Cas des lots INH-RMP-PZA-EMB	67
Tableau VIII: Résultat du test de CCM : Cas des lots INH-RMP-PZA.....	68
Tableau IX: Résultat du test de CCM : Cas des lots INH-RMP	68
Tableau X: Résultat du test de CCM : Cas des lots INH	68
Tableau XI: Résultat du test de CCM : Cas des lots PZA	68
Tableau XII: Résultat du test de CCM : Cas des lots EMB	69
Tableau XIII: Valeurs de la densité optique en fonction longueur d'onde des pics.....	70
Tableau XIV : Temps de Réention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'INH-RMP-PZA-EMB.....	71
Tableau XV: Temps de Réention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'INH-RMP-PZA.....	72
Tableau XVI: Temps de Réention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'INH-RMP.....	72
Tableau XVII: Temps de Réention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'INH	72
Tableau XVIII: Temps de Réention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas de PZA	72
Tableau XIX: Temps de Réention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'EMB.....	72
Tableau XX: Lots contenant INH-RMP-PZA-EMB	78
Tableau XXI: Lots contenant INH-RMP-PZA	79
Tableau XXII: Lots contenant INH-RMP	79
Tableau XXIII : Lots contenant INH	79
Tableau XXIV: Lots contenant PZA	79
Tableau XXV: Lots contenant EMB.....	80

INTRODUCTION

I.INTRODUCTION

La tuberculose résulte d'une affection à un *Mycobacterium* du complexe *tuberculosis* ou Bacille de Koch (BK), acquise au contact d'un sujet contagieux. La contagiosité de la tuberculose est limitée : la transmission nécessite habituellement des contacts prolongés et dépend de la contagiosité du sujet atteint et de la durée de contact (Société Française de pharmacologie, 2019).

L'incidence de la tuberculose est estimée à plus de **9,27 millions de cas dans le monde** avec une létalité sans traitement proche de 25% (EL HADJI SENY, 2010).

En Afrique, la prévalence de la tuberculose s'étend de **2,5 millions** soit ¼ de la population mondiale (OMS, 2020).

La tuberculose constitue un problème majeur de santé publique et sa prise en charge nécessite une altération du mode de vie du patient mais également une prescription médicamenteuse (les antituberculeux) dont l'efficacité dépend de l'observance du traitement par le malade ou son entourage.

Au Mali, sur 10882 personnes atteintes de la tuberculose, 6922 personnes sont sous traitement, près de 400 personnes meurent chaque année de la tuberculose dans le pays indique le Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNT) (Programme National de Lutte contre le Sida et la Tuberculose, 2021).

Les antituberculeux sont des médicaments antibiotiques utilisés pour le traitement de la tuberculose. Quatre antibiotiques antituberculeux sont employés à l'heure actuelle : **la rifampicine (RMP), l'isoniazide (INH), l'éthambutol (EMB) et le pyrazinamide (PZA)**. Ils sont utilisés en monothérapie ou en association dans le traitement de la tuberculose (Société Française de pharmacologie et de thérapeutique, 2019).

Selon une étude réalisée par l'OMS en 2006, de nombreux antituberculeux génériques présentent de graves défauts de qualité dus à leur mauvaise qualité de fabrication. Dans la plupart des cas, aucune étude de bioéquivalence n'a été réalisée (OMS, 2006).

La circulation des médicaments de mauvaise qualité, mal fabriqués ou contrefaits représente une menace permanente pour la santé publique. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2006 a estimé que 25% des médicaments utilisés dans les pays en développement sont de faux médicaments ou sont de qualité inférieure (BARBEREAU, 2006).

En Afrique francophone, l'inexistence d'unité de production pharmaceutique oblige les grossistes à importer la quasi-totalité de leur besoin en médicaments avec les risques de défaut

de qualité, ce qui constitue un handicap majeur dans l'objectif de la protection de la population (GIULIANO, 2019).

L'enjeu principal est de mettre à la disposition de la population des médicaments de qualité, sûrs et efficaces afin de garantir la sécurité de la population et leur droit à un accès de soins de qualité (GIULIANO, 2019). Cependant, la réussite du traitement peut dépendre de la qualité des médicaments.

Le contrôle analytique est un système de certification de la qualité des produits pharmaceutiques visant à déterminer par des méthodes appropriées, les critères d'acceptabilité, de retouche ou de rejet des produits.

Selon une étude réalisée en Algérie par Khanfri Soumian en 2016, la méthode HPLC a été validée pour le contrôle de la qualité de l'isoniazide (KHANFRI, 2016).

Dans un journal de recherche scientifique de l'Université de Lomé, publié en 2020, la méthode HPLC a été recherchée et validée ensuite appliquée pour l'identification et le dosage des antituberculeux en côte d'ivoire (SAP *et al.*, 2020).

D'après nos recherches effectuées sur différents sites, peu d'études ont été réalisées sur l'analyse analytique des antituberculeux au Mali et ailleurs, d'où un regain d'intérêt pour ces médicaments.

Raison de plus, nous nous sommes intéressés aux différentes molécules contenant un ou plusieurs principes actifs reçus au Service du Contrôle de Qualité des Médicaments.

OBJECTIFS

OBJECTIFS

OBJECTIF GENERAL :

- Analyser les paramètres physico-chimiques des antituberculeux au Laboratoire National de la Santé.

OBJECTIFS SPECIFIQUES :

- Déterminer les paramètres de contrôle qualité des antituberculeux ;
- Doser les principes actifs (PA) par des méthodes analytiques ;
- Répertorier les lots non conformes.

GENERALITES

II.GENERALITES

A. Rappel sur la tuberculose :

1. Histoire de la tuberculose :

La tuberculose existe au moins depuis 120 siècles, elle était reconnue par les médecines grecques, chinoises, égyptiennes et indiennes. Les grecs l'appelaient phtisie, c'est-à-dire consommation, la comparant ainsi à un feu intérieur qui brûlait les viscères (ISSOUF, 2011).

On a retrouvé sur des momies des squelettes de mal de pott. Hippocrate décrit les tubercules, des ulcérations et des pleurésies ainsi que les premiers traitements. En 1865, Villemin montre que la tuberculose humaine est transmissible par inoculation au lapin et au cobaye (ISSOUF, 2011).

L'agent responsable de la tuberculose (Bacille de Koch ou *Mycobacterium tuberculosis*) a été isolé pour la première fois par le médecin Allemand ROBERT KOCH le 24 Mars 1882, la bactérie cohabite avec les humains depuis des millions d'années (EL HADJI SENY, 2010).

De 1908 à 1920 le vaccin Bilié de Calmette et Guérin (BCG) a été mis au point par Albert Calmette et Camille Guérin à partir d'une souche vivante atténuée de bacille tuberculeux bovin (CHEICK, 2012).

Au 19^{ème} siècle, les connaissances sur la tuberculose évoluent grâce à Laennec, Villemin, Koch, Roentgen, Béchère etc... à qui on doit les descriptions anatomo-cliniques, la découverte et la contagion interhumaine, la découverte du germe, la découverte du rayon X, les descriptions cliniques, le vaccin BCG et streptomycine (PIERRE, 2007).

Dès 1921, de façon limitée et à partir de 1924 dans le monde entier la vaccination par le BCG fut utilisée chez l'homme et entraîna, la régression de l'incidence de la tuberculose dès la fin du 19^{ème} siècle. La chimiothérapie antituberculeuse a vu le jour à la fin de la deuxième guerre mondiale (JEAN-BAPTISTE, 1987).

Au cours des dernières décennies, la décroissance progressive et générale de la mortalité due à la tuberculose s'est poursuivie dans les pays développés avec l'avènement de la stratégie de DOTS, contrairement aux pays à économie émergente où elle est restée difficilement contrôlable (ISSOUF, 2011). L'histoire naturelle de la tuberculose est schématisée par la figure suivante :

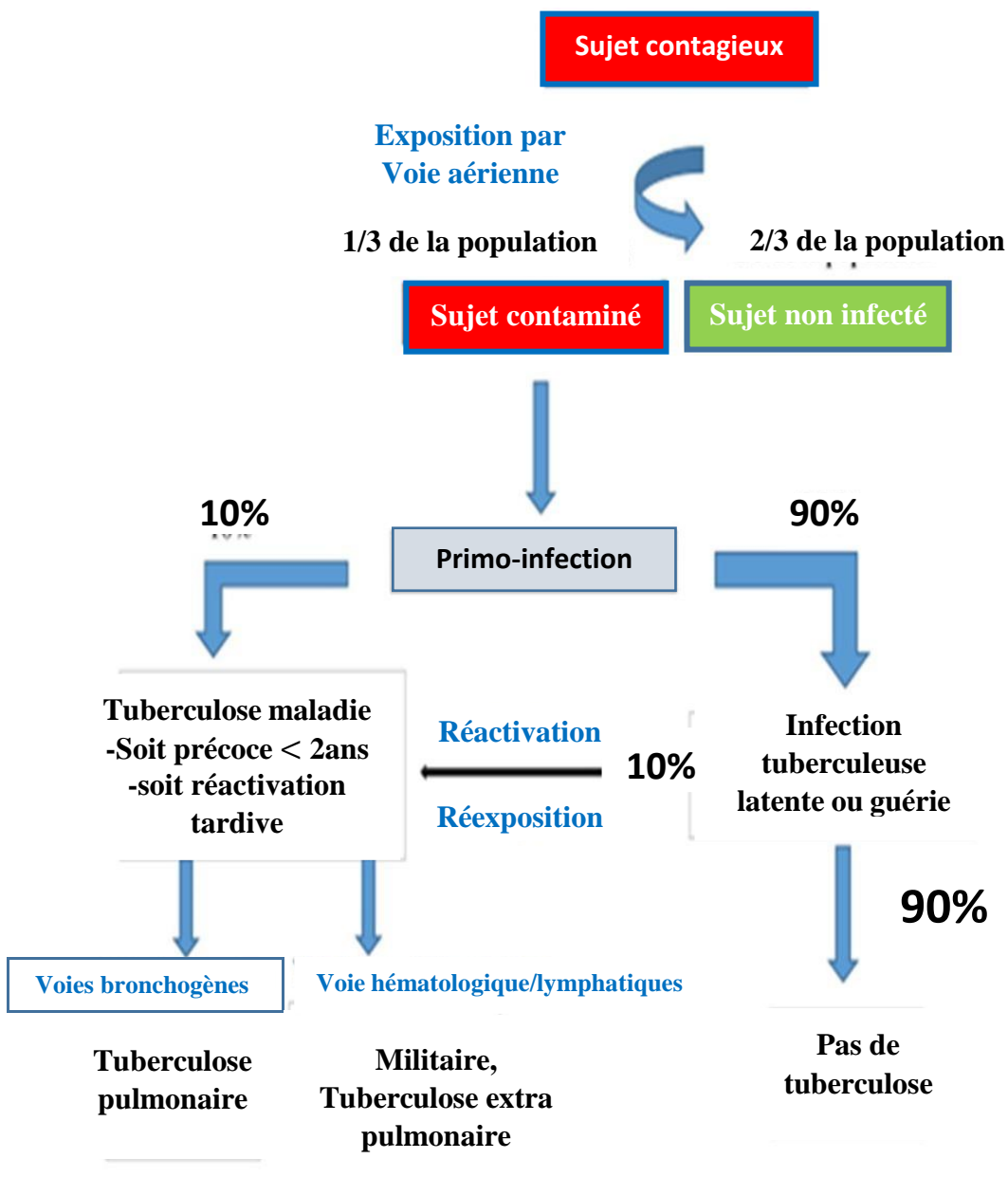


Figure 1: Histoire naturelle simplifiée de la tuberculose (BRIAND, 2016)

2. Définition de la tuberculose :

La tuberculose est une maladie infectieuse, contagieuse, endemo-épidémique, à transmission essentiellement interhumaine avec une propagation par voie aérienne due au complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MT) incluant *Mycobacterium hominis*, *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium africanum*, l'homme constituant le principal réservoir de bacilles tuberculeux (MOUSSA, 2012).

3. *Mycobacterium* :

3-1. Classification :

Le bacille appartient à l'ordre des Actinomycètes, de la famille des Mycobacteriaceae et du genre *Mycobacterium*. Le bacille comprend trois espèces dont *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis* (Guides médicaux MSF, 2021)

3-2. Description de l'agent pathogène :

Le *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch ou BK ou bacille tuberculeux humain est un bacille fin isolé ou groupé en amas. Le BK a les mêmes caractères généraux que les bactéries du genre *Mycobacterium*, le bacille est très sensible à la chaleur, à la lumière solaire, il résiste au froid et à la dessiccation. C'est une bactérie aérobie stricte dont la paroi est extrêmement riche en lipide (acide mycolique) (Guides médicaux MSF, 2021).

L'aérobie explique que l'organe d'élection de la maladie soit le poumon, car celui-ci offre les conditions idéales de multiplication aux bacilles : température à 37°C, obscurité et richesse en oxygène. La lenteur de multiplication, une division toutes les 20 heures dans les meilleures conditions, explique qu'une prise quotidienne d'antibiotique soit suffisante et que la durée du traitement soit longue (Guides médicaux MSF, 2021).

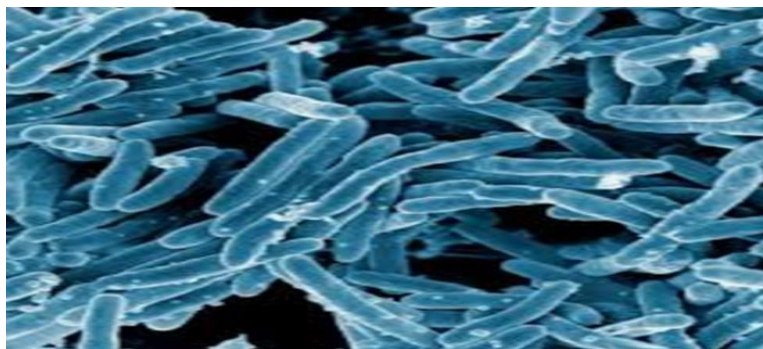


Figure 2: Structure de l'agent pathogène (GERARD H, 1994)

Le délai moyen du dépistage d'un tuberculeux est de 12 à 18 mois dans les pays en développement et de 4 mois dans les pays développés (OMS, 2006).

4. Physiopathologie :

La tuberculose est une maladie à transmission interhumaine se faisant par la voie aérienne à travers les gouttelettes de salives infectées en suspension dans l'air. La transmission par voie aérienne (inhalation de gouttelette infectée) est favorisée par la toux et l'expectoration, seules les tuberculoses pulmonaires et laryngées sont sources de transmission à l'entourage. Ces

gouttelettes contenant les bactéries pénètrent dans le tractus pulmonaire des personnes exposées allant jusqu'au parenchyme pulmonaire puis phagocytose par les macrophages, suivi de réponse inflammatoire locale, les macrophages sont transformés en cellules épithéloïdes ce qui va entraîner la formation des granulomes avec nécrose caséuse (lyse cellulaire) souvent localisé à l'apex (zone mieux ventilée) tous ces phénomènes auront comme conséquences :

- ❖ La formation d'un chancre d'inoculation ;
- ❖ Puis la progression par voie lymphatique jusqu'au ganglion avec ou sans réaction Pleurale (MICHEAU, 2005).

4-1. Symptômes :

Lorsqu'une personne est atteinte de tuberculose, elle se plaint de ne pas être en forme, de souffrir de fatigue chronique, d'amaigrissement, d'accès fièvre, de douleurs des articulations, sueurs nocturnes. Ces symptômes évoquent une tuberculose lorsqu'ils persistent plus de trois semaines.

Lorsque la tuberculose atteint les poumons, la personne souffre de toux persistante, d'essoufflement, et dans les formes avancées rejette des crachats sanglants.

La tuberculose peut également toucher les ganglions, les os, la moelle épinière, ainsi que les reins, la vessie ou le larynx. Parfois la tuberculose est disséminée dans tout le corps (on parle alors de tuberculose militaire).

Ces formes extra pulmonaires de la tuberculose touchent plutôt les enfants, les personnes âgées et les personnes immunodéprimées. Elles sont observées chez environ un quart des personnes atteintes de la tuberculose (MICHEAU, 2005).

4-2. Transmission :

Elle se fait essentiellement par contamination aérienne et accessoirement digestive (*M. bovis*). Lorsque le patient tousse ou éternue, il émet des particules infectantes, il s'agit des gouttelettes de pflugge (petites gouttelettes de sécrétions bronchiques) qui peuvent rester en suspension dans l'air et qui sont susceptibles d'être inhalées par les sujets contacts. Ces gouttelettes contiennent des bacilles infectants qui persistent jusqu'à 9h après leur émission. Chez l'homme le pouvoir pathogène s'observe avec un faible nombre de bacilles infectants, il est de l'ordre de 10 bacilles. Dans la majorité des cas les bacilles tuberculeux sont arrêtés au niveau du nez, des bronches et bronchioles. Ils sont entraînés par le mucus vers le pharynx puis déglutis et détruits par l'acidité de l'estomac. Les autres modes de contaminations comme la voie digestive ou cutanéomuqueuse sont exceptionnelles (CAROLINE, 2018).

Les risques de contamination sont importants chez les personnes vivantes dans le même foyer clos qu'un malade ayant une tuberculose pulmonaire cavitaire qui tousse (CHEICK, 2012)

5. Prise en charge de la tuberculose :

5-1. Actualité sur la tuberculose :

La lutte contre la tuberculose est avant tout une question de moyen. Ainsi profitant de la journée mondiale du 24 mars, le Centre Européen de Prévention et de Contrôle des Maladies (CEPCM) appelle les 28 états à davantage d'investissements dans la lutte contre la tuberculose (CAROLINE, 2018).

Selon le dernier rapport du centre, le nombre annuel de nouveau malades a diminué de 4,3% pourtant cette baisse est jugée insuffisante pour éradiquer la tuberculose d'ici 2030, objectif fixé par l'OMS en Novembre 2017.

Difficultés de diagnostics, traitements chers et peu diversifiés, multiplication des résistances aux antibiotiques,...les obstacles face à cette pandémie sont nombreux et les investissements dans la recherche sont insuffisants (CAROLINE, 2018).

5-2. Traitements :

➤ Traitement de la tuberculose infection latente (traitement préventif) :

Dans les pays développés une chimio prophylaxie est recommandée chez les enfants de moins de 15ans, chez les adultes récemment infectés et les immunodéprimés. Dans les pays en développement, la tuberculose infection latente n'est pas traitée.

Une tuberculose latente sera recherchée chez les patients à risque (immunodéprimés, entourage d'un patient bacillifère) et diagnostiquée selon les procédures habituelles (IDR, Test à l'interféron positif). Après que le diagnostic de la tuberculose maladie aura été strictement éliminé, deux schémas seront proposés chez l'adulte :

- ❖ Isoniazide en raison de 5 mg/kg/jour en monothérapie pendant 6 à 9 mois et jusqu'à 12 mois chez les immunodéprimés.
- ❖ Bithérapie avec Rifampicine et Isoniazide pendant trois mois en privilégiant les associations fixes.

Selon les études, ce traitement permettrait de réduire l'incidence de la tuberculose maladie de 60 à 75 pour cent (JASMER *et al.*, 2002).

Avant d'instaurer une chimio prophylaxie, des examens cliniques, radiologiques et bactériologiques excluant une tuberculose maladie doivent être effectués. En effet l'utilisation

à tort d'un mono ou d'une bithérapie provoquerait la sélection des souches résistantes au traitement (ABITEBOUL *et al.*, 2003).

5-3. Principes du traitement antituberculeux

5-3-1. Une poly chimiothérapie :

Une lésion tuberculose comporte deux populations bacillaires différentes :

- Une population très riche, présente dans les cavernes, dont la multiplication rapide est responsable du développement de colonie d'emblée résistante à chacun des antibiotiques, ce qui interdit la monothérapie et justifie une phase initiale de traitement intensif basé sur l'administration simultanée de plusieurs antibiotiques.
- Une population à multiplication lente, présente dans les foyers caséux solides et dans les macrophages, moins accessible aux antibiotiques et pouvant être à l'origine de rechutes.

Le traitement de la tuberculose comporte toujours une association d'antituberculeux d'où la dénomination de poly chimiothérapie. Cette poly chimiothérapie a plusieurs intérêts :

D'une part la combinaison de plusieurs agents ayant des mécanismes d'action variés permet d'agir sur les différents types de bacilles (extra ou intracellulaires et à multiplication lente ou active).

D'autre part, elle permet de prévenir la sélection de mutants résistants, évitant ainsi les échecs de traitements (VEZIRIS *et al.*, 2006).

5-3-2. Schéma thérapeutique d'un traitement standard de tuberculose maladie

Alors que la plupart des infections bactérienne sont guéries après une semaine de traitement, la tuberculose nécessite, elle, au moins six mois de traitement. Cette durée de traitement est due à la présence de bacilles à métabolisme ralenti et sporadique, notamment dans les macrophages et le granulome, qui sont plus difficiles à tuer que les bacilles en multiplication. Ces bacilles, tolérants à un traitement antibiotique, peuvent persister dans l'organisme et être à l'origine de rechutes après traitement. Pour éviter cela, tous les schémas thérapeutiques comprennent une phase initiale (ou intensive) et une phase d'entretien.

- Une phase initiale ou intense qui dure deux mois et qui sert à détruire rapidement les bacilles de *M. tuberculosis*, à prévenir l'apparition de bacilles résistants et à faire disparaître la contagiosité.

- Ensuite, une phase d'entretien ou de continuation est mise en place. Cette étape sert à stériliser les lésions et prévenir ainsi les rechutes. Le traitement est instauré si possible après des résultats de l'antibiogramme (BRIAND, 2016).

Le schéma thérapeutique classique, est une quadrithérapie de deux mois, qui consiste à associer l'isoniazide (INH) à la rifampicine (RMP), avec de l'éthambutol (EMB) et de la pyrazinamide (PZA). Puis le traitement continu par une bithérapie suivie pendant quatre mois, et qui associe l'isoniazide à la rifampicine (SONGO, 2019).

6. Les différentes classes thérapeutiques :

Les antituberculeux appartiennent à la grande classe des antibiotiques. Le panel des antituberculeux est spécifique et très limité. Actuellement, ils peuvent être divisés en molécules de première et seconde ligne. Les molécules de première ligne sont les médicaments de choix, utilisés dans le traitement standard, à savoir l'isoniazide, la rifampicine, l'éthambutol et le pyrazinamide. Les molécules de seconde ligne correspondent à toutes les autres molécules destinées à traiter les tuberculoses résistantes aux antituberculeux de première ligne. (MAUGEIN, CHEMOUL, 2010).

Selon l'OMS, les antituberculeux peuvent être aussi classés en cinq groupes, en fonction de leur efficacité, tolérance et classe pharmacologique. Dans cette classification, le premier groupe équivaut aux molécules de première ligne.

Tableau I : Groupes de médicaments utilisés

GROUPES	MOLECULES
Groupe 1 : 1 ^{ère} ligne	Ethambutol, Pyrazinamide, Rifampicine, Isoniazide
Groupe 2 : injectables	Kanamycine, Amikacine, Capréomycine, Streptomycine
Groupe 3 : fluoroquinolones	Moxifloxacin, Lévofoxacin, Ofloxacin
Groupe 4 : 2 ^{ème} ligne orale bactériostatique	Ethionamide, Prothionamide ; Cyclosérine, Terizidone, Acide <i>p</i> -aminosalicylique (PAS)
Groupe 5 : activité douteuse (non recommandés par l'OMS)	Thioacétazone, Clofazimine, Linézolide Clarithromycine, Amoxicilline/acide clavulanique, ipénème/cilastatine Isoniazide à forte dose (16 -20 mg/kg/j)

Notre étude se portera sur les antituberculeux de « première ligne »

6-1. Les antituberculeux de « première ligne »

Les antituberculeux de première ligne sont des médicaments antibiotiques de première intention utilisés pour le traitement de la tuberculose. Ce sont :

6-1-1. Isoniazide (INH) :

❖ Définition-structure chimique :

L'isoniazide (INH) est une hydrazide de l'acide iso nicotinique, antituberculeux synthétique qui présente une activité bactéricide vis-à-vis du complexe tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanus*) appartenant à la grande famille des antibiotiques. Son activité a été décrite en 1952. Il fut synthétisé 40 ans plus tôt à partir d'isonicotinate d'éthyle et d'hydrazine par Meyer et Mally en 1912 (RICH, 2009)

C'est un amide pyridinique, antibactérien de synthèse totale possédant une activité bactéricide sur les mycobactéries en particulier *M.tuberculosis*. Du point de vue chimique, il possède dans sa structure chimique un hétérocycle pyridinique porteur d'un groupe amide (SONGUIGAMA, 2018).

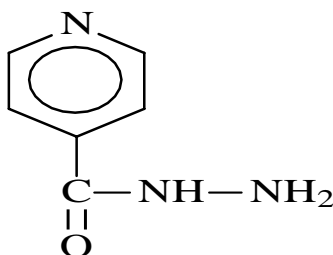


Figure 3: Structure chimique de l'isoniazide (SONGUIGAMA, 2018).

❖ Mécanisme d'action :

L'isoniazide est une prodrogue qui doit être activée par la catalase-peroxydase (codée par le gène katG). La katG active l'isoniazide en radical isonicotinoyl. Ce radical isonicotinoyl réagit avec les coenzymes nucléosidiques pyridine cellulaires NAD(P) H/NAD(P) +/NAD(P), pour former des complexes isonicotinoyl-NAD. Ce complexe isonicotinoyl agit comme un puissant inhibiteur de InhA, l'enoyle-ACP réductase de *M. tuberculosis*, responsable de la biosynthèse des acides mycoliques (BROSSIER, 2011).

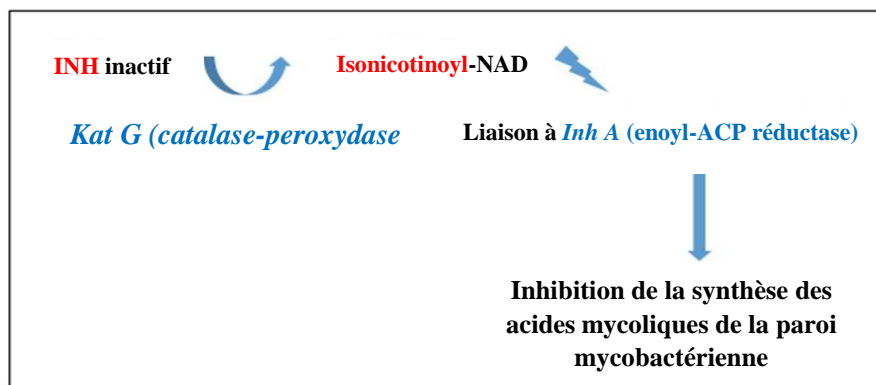


Figure 4: Mécanisme d'action de l'isoniazide (BROSSIER, 2011)

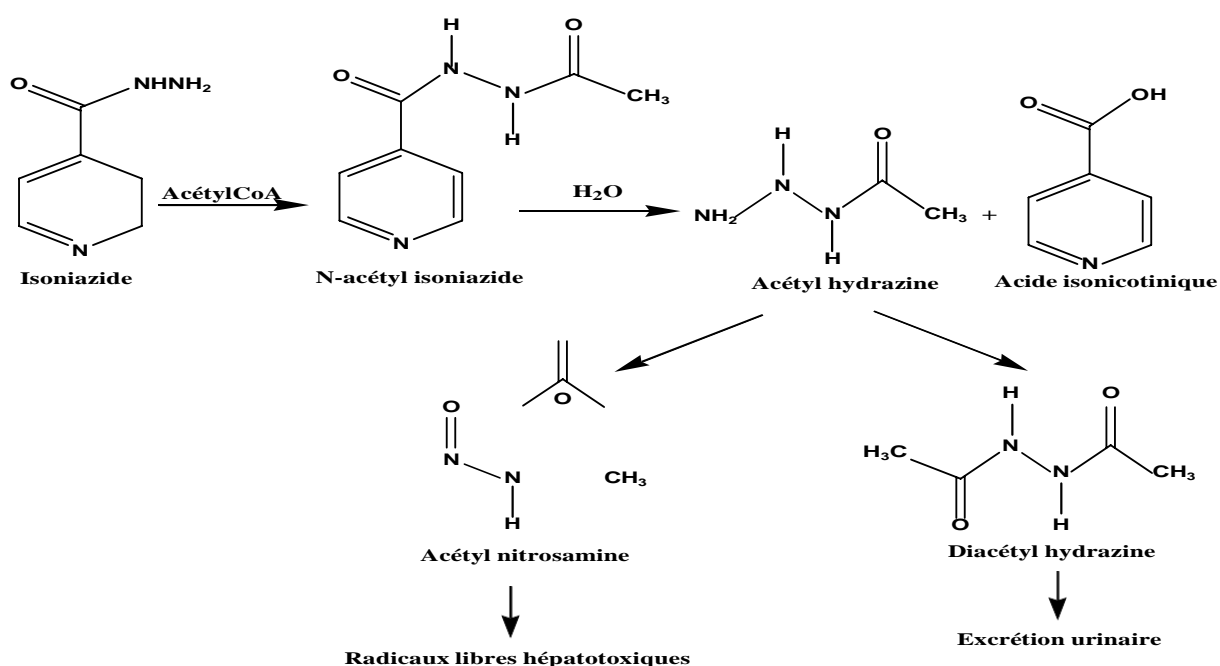


Figure 5: Métabolisme de l'isoniazide (BROSSIER, 2011)

Il est fortement bactéricide sur les bacilles à multiplication active (cavernes) et les bacilles intracellulaires. L'isoniazide est peu ou pas actif sur les bacilles de foyers caséux.

Il est admis qu'environ 50 % des souches sont sensibles à 0,06 µg/mL et 80 % à 0,1 µg/mL. C'est l'antituberculeux pour lequel la résistance primaire est la plus importante. Sur le plan pharmacocinétique, il est métabolisé au niveau hépatique, notamment par acétylation, et on distingue parmi les malades des acétyleurs lents et des acétyleurs rapides. Pour obtenir des concentrations efficaces et non toxiques, il peut être nécessaire de réduire la posologie chez les premiers, et de l'augmenter chez les derniers (FAURE, 2009).

❖ Relation structure-activité

L'entité 4-pyridine hydrazide constitue le substrat indispensable à l'induction de l'activité antituberculeuse.

Le remplacement de la cétone de l'isoniazide par un groupement carbothionamide conduit aux thionamides également antituberculeux (SONGUIGAMA, 2018).

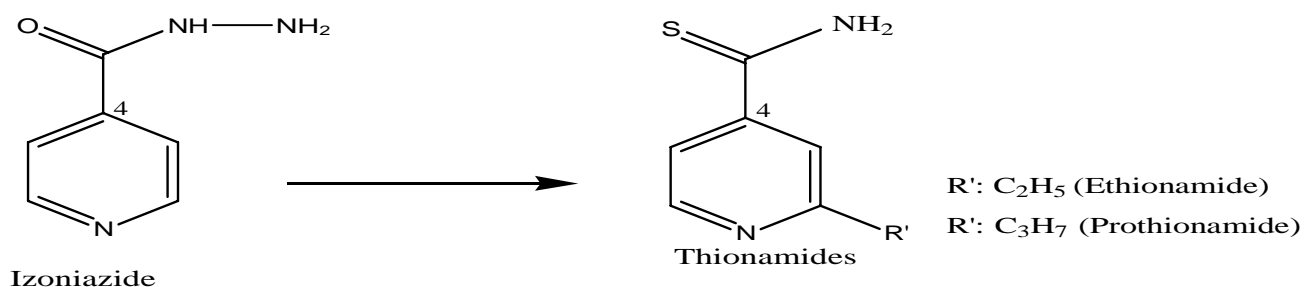


Figure 6: Pharmaco modulation de l'Isoniazide en Thionamides (Ethionamide, Prothionamide) (SONGUIGAMA, 2018).

Dans la série chimique des Thionamides obtenue par pharmacomodulation de l'isoniazide, les études de relations structures ont montré que :

- Le motif 4-pyridine carbothionamide constitue également le substrat indispensable à l'induction de l'activité antituberculeuse.
- Le groupement alkyle de type éthyle (Ethionamide) ou propyle (Prothionamide) en position 2 de la pyridine seraient à l'origine d'une amélioration de l'activité antituberculeuse (SONGUIGAMA, 2018).

❖ Indication :

La seule indication de l'isoniazide est le traitement de la tuberculose, selon différentes modalités :

✓ Curatives :

- Traitement de la tuberculose-maladie (active)
- Traitement de la primo-infection symptomatique

✓ Prophylactiques en monothérapie :

- Primo-infection tuberculeuse asymptomatique
- Contage avec un sujet bacillifère
- Personne à risque de réactivation d'une tuberculose (Société française de pharmacologie, 2020)

❖ **Contre-indication et précautions d'emploi :**

- Ne pas administrer en cas d'insuffisance hépatique sévère :
- Peut provoquer :
 - Neuropathies périphériques, en particulier chez les patients dénutris, alcooliques, diabétiques ou infectés par le HIV ; les femmes enceintes ou allaitantes et les insuffisants rénaux ;
 - Hépatotoxicité, en particulier chez les patients alcooliques ou souffrant de maladie hépatique chronique ou sous rifampicine ou âgés de plus de 35 ans ;
 - Réactions d'hypersensibilité, réactions psychotiques, convulsions et dépression.
- Si le patient présente des signes d'hépatotoxicité (par exemple ictère), arrêter l'isoniazide jusqu'à résolution des symptômes.
- Administrer avec prudence et sous surveillance chez les patients traités par phénytoïne, carbamazépine, benzodiazépines (risque de toxicité), warfarine (risque de saignement).
- Associer de la pyridoxine (vitamine B6) chez les patients à risque de neuropathies périphériques (enfant : 5 à 10 mg une fois par jour ; adulte : 10 mg une fois par jour).
- Grossesse : si urgence, administrer de la pyridoxine à la mère (10 mg une fois par jour).
- Allaitement : si urgence administrer de la pyridoxine à la mère (10 mg une fois par jour) et à l'enfant (5 mg une fois par jour) (Guides médicaux MSF, 2021).

❖ **Effets indésirables :**

Ses principaux effets indésirables sont digestifs (nausées), hépatiques (avec élévation transitoire des transaminases pouvant donner une hépatite médicamenteuse nécessitant l'arrêt du médicament). Des neuropathies périphériques (surtout en cas de carence en vitamine B6), et des troubles neuropsychiques ont aussi été observés (BROSSIER, 2011).

6-1-2. Rifampicine (RMP) :

❖ **Définition –Structure chimique :**

La rifampicine est un antibiotique antibactérien de la famille des rifamycines, antituberculeux, antilépreux, dont le mode d'action est la formation d'un complexe stable avec la RNA polymérase des bactéries (VIDAL, 2013)

Découverte en 1964 et introduite sur le marché en 1967, la rifampicine a radicalement changé le traitement de la tuberculose. Elle possède un large spectre antibactérien qui comprend les

staphylocoques, les streptocoques et les mycobactéries. Ce dérivé macrocyclique possède dans sa structure un noyau naphtho-[2-1 β] -urane relié à un pont aliphatique à 17 atomes de carbone par des fonctions amides et éther oxydes respectivement en ses positions 2 et 12. Une autre molécule de la famille des rifamycines peut être rencontrée, la rifabutine qui possède un spectre d'activité plus large ; elle est utilisée chez les sujets en traitement pour le VIH (ANDERSON *et al.*, 2006).

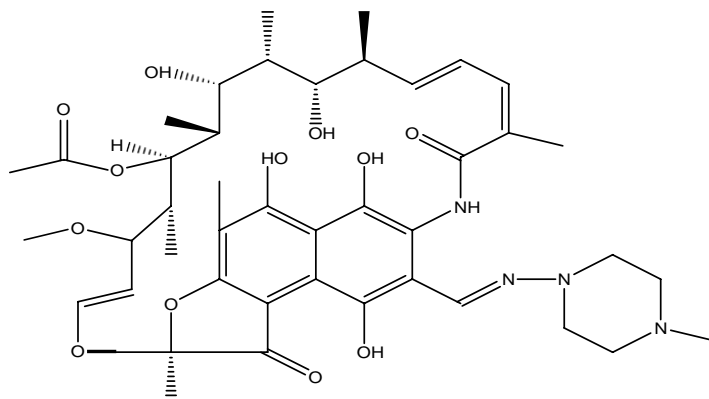


Figure 7: Structure chimique de la rifampicine (SONGUIGAMA, 2018).

❖ Mécanisme d'action :

Le mécanisme d'action de la rifampicine et de toute la famille des rifamycines en général, s'explique par l'inhibition de l'ARN polymérase au niveau de la sous-unité bêta, responsable du blocage de l'initiation de la chaîne de transcription de l'ADN en ARN.

La rifampicine exerce une action bactéricide sur les bacilles intracellulaires et sur les bacilles extracellulaires. Elle a donc une action sur les bacilles quiescents et sur les bacilles en multiplication contrairement à l'isoniazide. Elle est la molécule antituberculeuse ayant la meilleure activité stérilisante et son ajout dans le schéma standard a permis de raccourcir le traitement à neuf mois.

La rifampicine est administrée par voie orale ou par voie intraveineuse. Son absorption digestive est quasi-complète. Le pic de concentration plasmatique est obtenu entre 1 et 4 heures après administration. C'est une molécule qui subit un effet de premier passage hépatique intense avec formation d'un dérivé biologiquement actif. La rifampicine est un puissant inducteur enzymatique microsomal (CYP3A4, 2C9, 2C19) et de ce fait elle interagit avec de nombreux médicaments (antirétroviraux, corticoïdes, oestroprogestatifs, anticoagulants oraux, antiépileptiques, antifongiques azolés,...). La tolérance à la rifampicine est généralement bonne (SONGUIGAMA, 2018).

❖ Relation structure-activité.

Le pont aliphatique carboné permet de stabiliser la conformation globale de la molécule.

Les éléments indispensables à l'établissement de la liaison entre la cible biologique ARN polymérase et la molécule de rifamycines pour l'obtention de l'activité antituberculeuse sont :

- Les groupements oxygènes en C₁ et C₈ des hydroxyles (OH) phénoliques ;
- Les groupements hydroxyles dans les conformations β et α respectivement en C₂₁ et C₂₃ conduit à une perte de l'activité. Cependant le remplacement de l'hydroxyle en C₁ par un groupement carbonyle entraine une baisse de l'activité (SONGUIGAMA, 2018).

Les différentes modifications réalisées à leur niveau ont ainsi permis d'obtenir des dérivés hémi-synthétiques à partir de modulations dont le point de départ est la Rifamycine SV, dérivé naturel de la Rifamycine B (SONGUIGAMA, 2018).

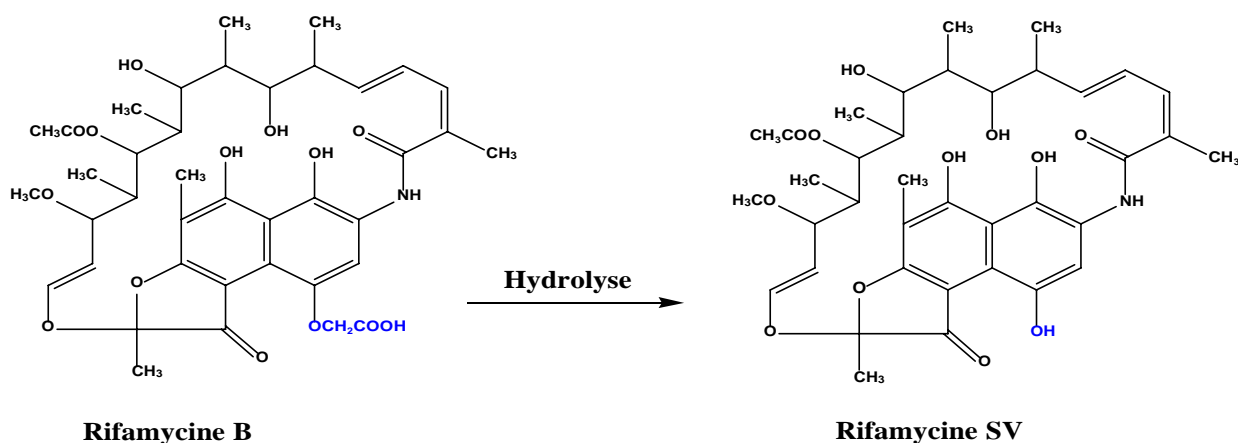


Figure 8 : Pharmacomodulation de la Rifamycine B à la Rifamycine SV (SONGUIGAMA, 2018).

La première modification a permis d'obtenir le chef de file de cette série, la Rifampicine.

Cette modification a consisté en la 3-formylation de la Rifamycine SV suivie de la condensation de l'aldéhyde obtenue avec la N-méthylpiperazine-N-amine. Ceci a permis d'obtenir une meilleure biodisponibilité par voie orale (SONGUIGAMA, 2018).

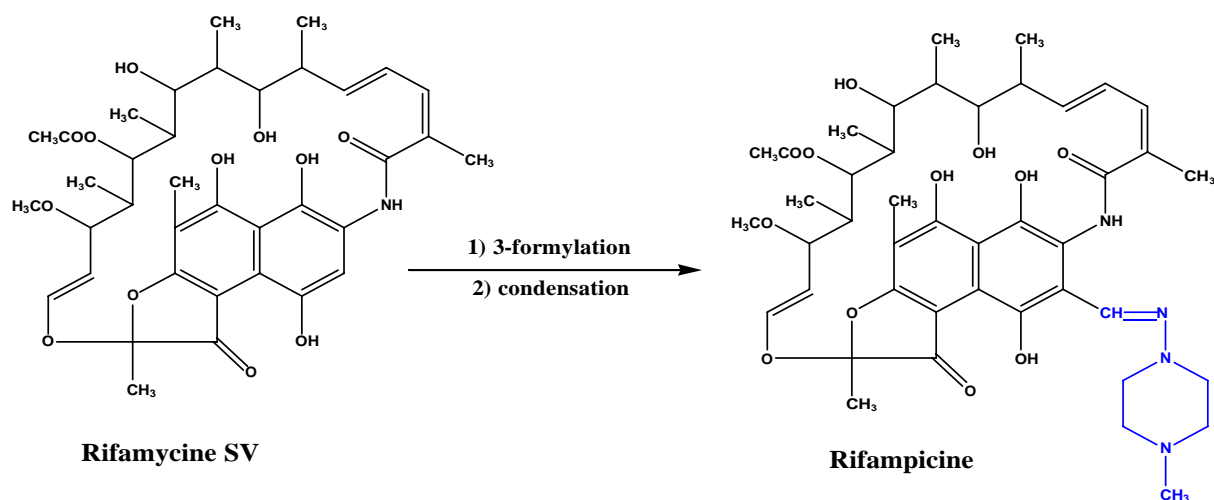


Figure 9 : Pharmacomodulation de la Rifamycine SV en Rifampicine (SONGUIGAMA, 2018).

- La deuxième pharmacomodulation qui a conduit à la Rifapentine a été le remplacement du méthyle de la pipérazine de la rifampicine par un cyclopentyle. Ceci a permis d'allonger la demi-vie.

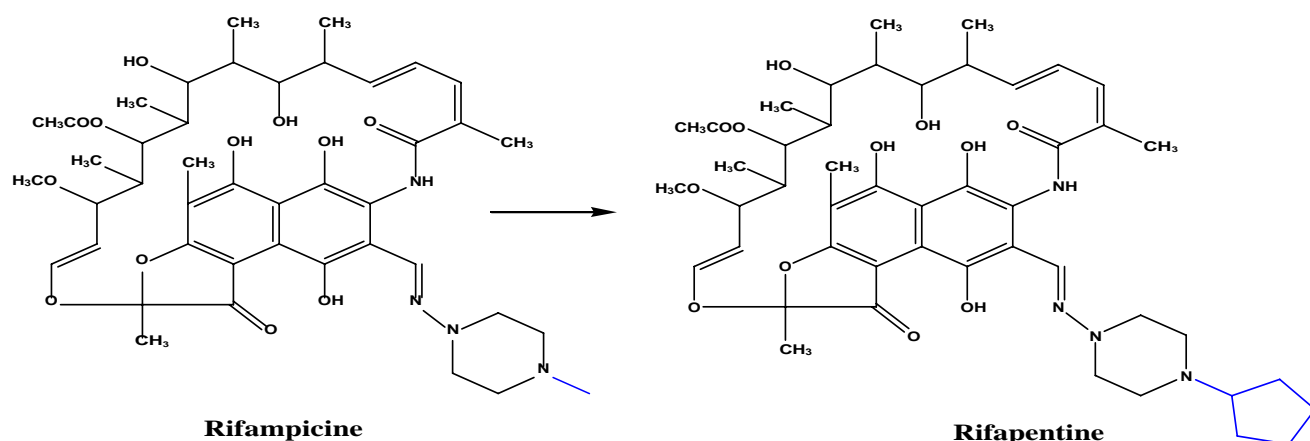


Figure 10 : Pharmacomodulation de la Rifampicine à la Rifapentine (SONGUIGAMA, 2018).

- la troisième pharmacomodulation a donné lieu à la rifabutine par suppression du OH en C₄ doublée de la cyclisation C₃-C₄ de type imidazoline. Cette modulation a pour résultat une meilleure pénétration tissulaire et une absence d'induction enzymatique.

Lorsque la cyclisation est de type benzoxazimyle, elle concourt au prolongement de la demi-vie et à une action contre les germes résistants à la rifampicine (SONGUIGAMA, 2018).

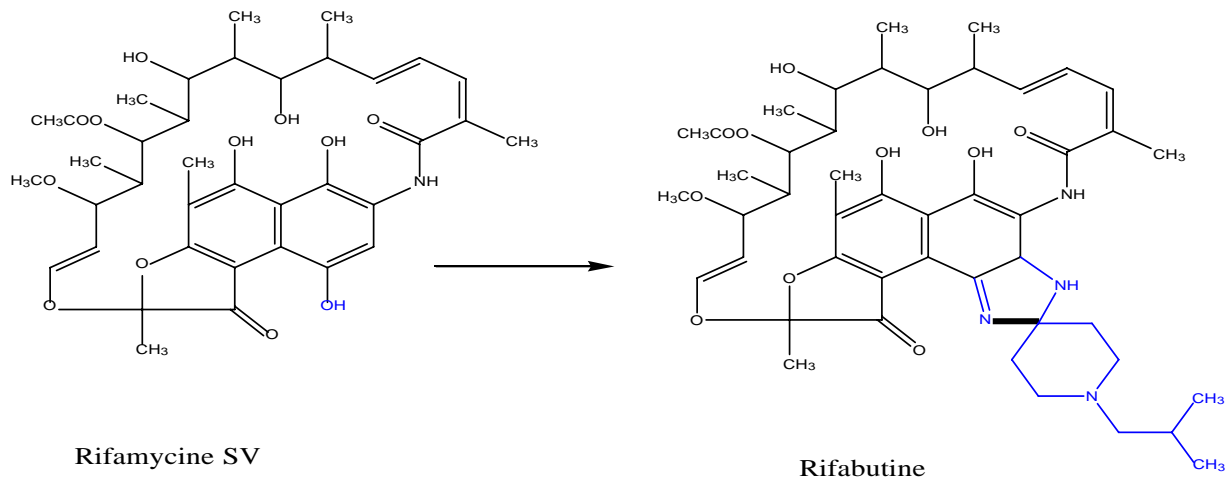


Figure 11 : Pharmacomodulation de la Rifamycine SV à la Rifabutine (SONGUIGAMA, 2018).

❖ **Indication :**

La rifampicine est utilisée dans la prise en charge de :

- Brucelloses,
- Infections à mycobactéries atypiques,
- Infections documentées à germes sensibles,
- Lèpres,
- Méningite à méningocoques,
- Tuberculoses (VIDAL, 2013).

❖ **Contre-indications et précautions d'emploi :**

- Ne pas administrer en cas d'hypersensibilité ou troubles hématologiques sévères (thrombocytopénie, purpura) lors d'un précédent traitement par une rifamycine.
- Éviter ou administrer avec prudence en cas de troubles hépatiques.
- Peut provoquer :
 - Troubles digestifs, céphalées, somnolence, hépatotoxicité ;
 - Syndrome pseudo-grippal, thrombocytopénie, réactions d'hypersensibilité.

La rifampicine réduit l'effet de nombreux médicaments (antimicrobiens, certains antirétroviraux, certaines hormones, antidiabétiques, corticoïdes, phénytoïne, antiviraux à action directe pour le traitement de l'hépatite C, warfarine, etc...) :

- Chez les femmes sous contraception, utiliser la médroxyprogestérone injectable ou un dispositif intra-utérin.
- Chez les patients sous fluconazole, respecter un intervalle de 12 heures entre l'administration de la rifampicine (matin) et du fluconazole (soir).
- Grossesse et allaitement : pas de contre-indication. Si utilisée en fin de grossesse, administré de la phytoménadione (vitamine K1) à la mère et au nouveau-né La rifampicine et la rifabutine sont contre-indiquées chez les patients qui y sont allergiques (Guide Médicaux MSF, 2021).

❖ **Effets indésirables :**

Les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont des troubles digestifs avec des nausées et vomissements qui peuvent être palliés par une administration au cours du repas. Elle peut également induire des phénomènes immuno-allergiques observés surtout lors des prises discontinues du médicament dans 5% des cas (SONGUIGAMA, 2018).

6-1-3. Ethambutol (EMB) :

❖ **Définition –structure chimique :**

L'éthambutol ou 2,2-(éthylènediimino) bis [(2S) -butan-1-ol] est un dérivé de l'éthylène diamine antibactérien de synthèse. Seul l'isomère dextrogyre du N, N-bis (hydroxyméthyl-1-propyl) -éthylène diamine est doué d'activité antituberculeuse.

C'est un dérivé synthétique appartenant à la famille des éthyldiamines (ou éthylènediamines) et utilisé sous la forme d'isomère optique pur de configuration SS (IBRAHIMA, 2019).

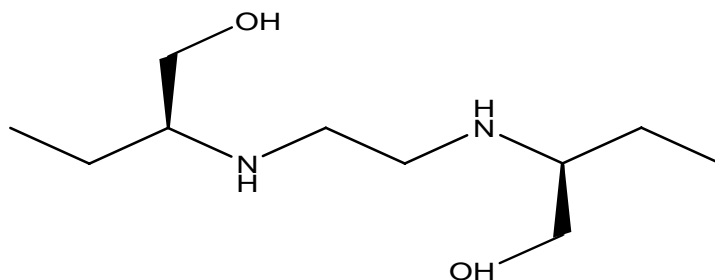


Figure 12: Structure chimique de l'éthambutol (SONGO, 2019).

❖ **Mécanisme d'action :**

L'éthambutol possède une double action : d'une part il inhibe la synthèse de l'arabinogalactane et du lipoarabinomannane composants de la paroi bactérienne et d'autre part, en dégradant cette paroi bactérienne, il améliore la pénétration des autres antituberculeux, comme la rifampicine. L'éthambutol agit sélectivement sur les mycobactéries typiques humaines et bovines et atypiques. Il n'existe pas de résistance croisée avec les autres antituberculeux. Les résistances primaires à l'éthambutol sont inférieures à 1%. Pour éviter l'émergence de résistances acquises en monothérapie, l'éthambutol sera toujours associé à un ou plusieurs antituberculeux. Lors de la phase initiale du traitement, il permettrait d'éviter la sélection de mutants en cas de suspicion de résistance à l'isoniazide (IBRAHIM, 2019).

L'éthambutol est un antituberculeux globalement bien toléré par les patients. Toutefois, il présente un risque de toxicité au niveau du nerf optique qui justifie un suivi attentif du traitement (IBRAHIM, 2019).

❖ Relation structure –activité

Le pharmacophore de cette molécule est le motif éthylène diamine. La conformation (S, S) des carbones asymétriques adjacents aux amines est indispensable à l'activité de même que la distance entre les deux atomes d'azote.

Le remplacement des groupements hydroxy éthyles par des groupements alkyles possédant un nombre de carbone supérieur à 5 ($C > 5$) entraîne une augmentation de la lipophilie de la molécule et partant une meilleure diffusion tissulaire (SONGUIGAMA, 2018).

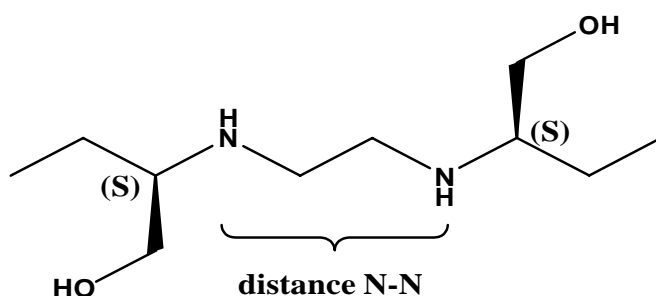


Figure 13 : Eléments structuraux d'activité de l'Ethambutol (SONGUIGAMA, 2018)

❖ Indication :

La seule indication de l'éthambutol est le traitement curatif de la tuberculose active et de la primo-infection symptomatique. L'éthambutol n'a pas sa place dans la chimio prophylaxie antituberculeuse (Société française de pharmacologie et de thérapeutique, 2019).

❖ **Contre-indications, précautions :**

Ne pas administrer en cas d'insuffisance rénale sévère ou de névrite optique préexistante (p. ex. rétinopathie diabétique).

- Peut provoquer : névrite optique rétrobulbaire dose-dépendante, exacerbée en cas d'insuffisance rénale.
- La posologie doit être soigneusement ajustée au poids du patient, en particulier chez les enfants < 5 ans, car il est difficile de dépister des troubles visuels à cet âge (Guides médicaux MSF, 2022).

❖ **Effets indésirables :**

Son principal effet indésirable est la névrite optique rétrobulbaire pouvant conduire à une cécité totale si le traitement n'est pas arrêté rapidement (Société française de pharmacologie et de thérapeutique, 2019). Ces effets indésirables se manifestent soit par une névrite optique rétrobulbaire, soit par une toxicité rétinienne (PERRIOT, CHAMBONNET, ESCHALIER, 2011).

6-1-4. Pyrazinamide (PZA)

❖ **Définition et structure chimique :**

Comme l'INH, le pyrazinamide est un dérivé du nicotinamide, connu depuis 1952 mais avait été rapidement abandonné en raison de sa toxicité hépatique. De nombreuses longues études ont conduit à le réhabiliter dans les années 1980 (IBRAHIM H M, 2019).

C'est une prodrogue qui nécessite une activation par une pyrazinamidase codée par le gène *pncA*. Le résultat est une accumulation d'acide pyrazinoïque, forme active sur les bacilles « semi-dormants » dans un environnement à pH acide mais pas à pH neutre. Cette activité en milieu acide est la particularité du pyrazinamide. En effet, il agit sur les bacilles de *M. tuberculosis* en milieu acide (intramacrophagiques), non éliminés par les autres antituberculeux. Cependant, même à pH acide, le pyrazinamide tue lentement et de façon incomplète *M. tuberculosis*. Son mode d'action est encore mal connu (OMS, 2015).

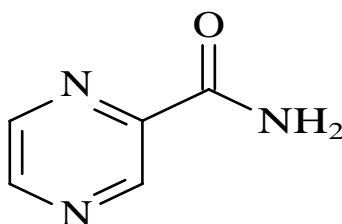


Figure 14 : Structure chimique du pyrazinamide (SONGO, 2019).

❖ **Relations structure-activité :**

Du point de vue chimique, elle possède un hétérocycle pyrazinique porteur d'un groupe carbohydrazide. Le remplacement de l'hétérocycle pyridinique par un noyau pyrazine conduit au pyrazinamide. Le pyrazine-2-amide constitue également un substrat indispensable à l'activité enzymatique *in vivo*. Cette molécule n'est active qu'en milieu acide. Tout remplacement du noyau pyrazine conduit à une perte d'activité. De même toute modification de la fonction amide en position 2 conduit à une perte d'activité (SONGUIGAMA, 2018).

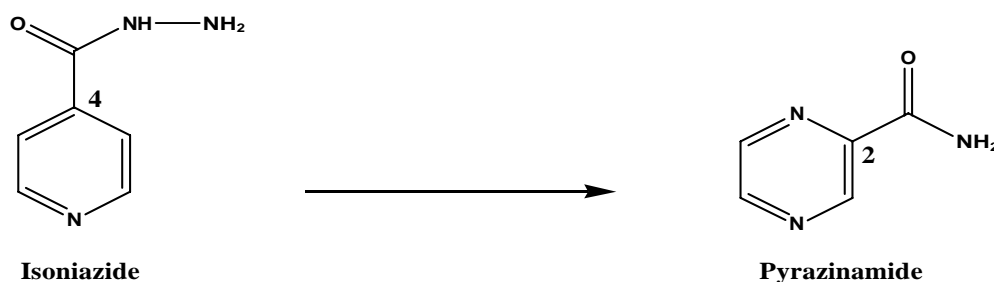


Figure 15: Pharmacomodulation de l'isoniazide conduisant au pyrazinamide
(SONGUIGAMA, 2018)

❖ **Mécanisme d'action :**

Son mode d'action est encore mal connu, la cible pourrait être le complexe FAS-I impliqué dans la synthèse des acides gras à courte chaîne de la paroi. Son introduction dans le traitement de base de la tuberculose a permis de réduire la durée de traitement de 9 ou 12 mois à une durée de 6 mois (IBRAHIMA, 2019).

❖ **Indication :**

La pyrazinamide est un médicament utilisé uniquement dans le traitement de la tuberculose. Son action est essentiellement bactériostatique, mais peut également être bactéricide sur les *Mycobacterium tuberculosis* qui se répliquent le plus rapidement. La pyrazinamide fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'Organisation Mondiale de la Santé (liste mise à jour en avril 2015) (OMS, 2015)

Elle est toujours utilisée en association avec d'autres antibiotiques l'isoniazide, la rifampicine et l'éthambutol contre le bacille de Koch pendant les deux premiers mois du traitement afin d'en réduire la durée globale du traitement, en absence de cet antibiotique la durée du traitement est de 9 mois. La pyrazinamide associée à la rifampicine constitue le traitement privilégié contre l'infection tuberculeuse latente 4 (ITL) (OMS, 2015)

La pyrazinamide n'est pas utilisée contre d'autres mycobactéries : *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium leprae* présentent des résistances à la pyrazinamide indique la liste nationale des médicaments essentiels de l'OMS en 2015.

❖ **Contre-indication :**

Ce médicament ne doit pas être employé dans les cas suivants :

- Insuffisance hépatique,
- Insuffisance rénale,
- Hyper uricémie,
- Porphyrie,
- Grossesse (VIDAL, 2022).

❖ **Effets indésirables :**

L'effet secondaire le plus fréquent (environ 1 % des cas) à la prise de pyrazinamide est l'arthralgie, sans être toutefois assez douloureuse pour imposer l'arrêt de la prise du médicament. La pyrazinamide peut également provoquer des crises de goutte en réduisant l'élimination urinaire de l'acide urique. L'effet indésirable le plus dangereux est l'hépatotoxicité de la pyrazinamide, qui dépend de la dose administrée. Dans la tétrathérapie standard (éthambutol + isoniazide + pyrazinamide + rifampicine), c'est la pyrazinamide qui est généralement à l'origine des hépatites induites. Parmi les autres effets secondaires, on compte la nausée, les vomissements, l'anorexie, l'anémie sidéroblastique, l'exanthème, l'urticaire, le prurit, la dysurie, la néphrite interstitielle, le malaise, et plus rarement la porphyrie et la fièvre (YEE *et al.*, 2003).

6-2. Autres antituberculeux :

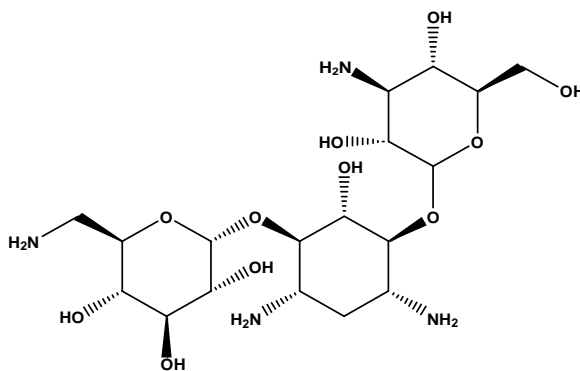


Figure 16: Structure de Kanamycine : (SONGO, 2019)

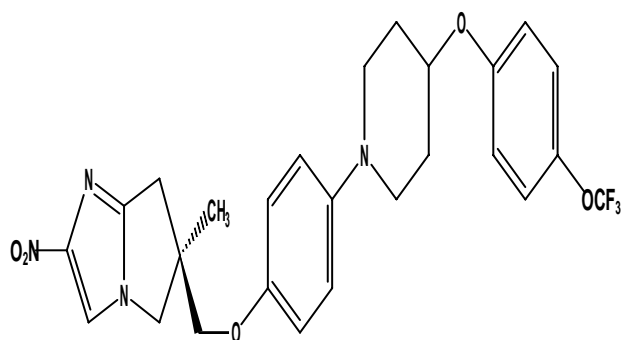


Figure 17: Structure de Delamanid (SONGO, 2019).

6-3.LA BEDAQUILINE Sirturo®

❖ Définition et structure chimique

La bédaquiline est la première molécule de la classe des diarylquinoléine. Cette famille chimique se différencie des autres classes antimycobactériennes par sa structure originale (BRIAND M, 2016).

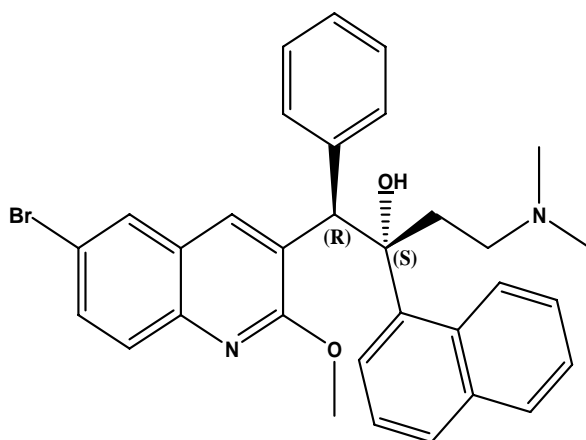


Figure 18: Structure chimique de la bédaquiline (SONGO, 2019):

La dénomination chimique de la bédaquiline est : (1R, 2S) -1-(6-bromo-2-méthoxyquinolin-3-yl)-4-(diméthylamino)-2-(naphthalen-1-yl)-1-phénylbutan-2-ol, de formule brute $C_{32}H_{31}BrN_2O_2$ et de poids moléculaire $M = 555,50$ g/mol. L'hétérocycle central, quinoléine, est fonctionnalisé par une chaîne latérale (en 3') responsable de l'activité antimycobactérienne. Cette chaîne aminée avec une fonction alcool tertiaire possède deux

substituants aromatiques et est caractérisée par la présence de deux centres stéréogènes adjacents. L'isomère de configuration R, S est celui utilisé en thérapeutique (SONGO, 2019).

❖ **Mécanisme d'action :**

La bédaquiline (BDQ) est une diarylquinoléine qui agit par inhibition de la pompe à protons de l'ATP-synthase mycobactérienne. Elle bloque ainsi la production d'ATP (adénosine triphosphate) au sein de *Mycobacterium tuberculosis*. L'ATP est une molécule connue pour être le support énergétique nécessaire à l'ensemble des réactions métaboliques permettant la croissance et la survie bactérienne (SONGO, 2019).

❖ **Relation structure-activité :**

La BDQ est une diarylquinoléine qui contient deux carbones asymétriques : C-1(R) qui porte le groupement phényle et qui est lié au noyau quinoléine et C-2(S) qui porte le groupement hydroxyle. Cette configuration a été établie comme étant la configuration absolue (après analyse par l'approche RMN 2D et après analyse conformationnelle) pour l'utilisation thérapeutique (SONGO, 2019).

Structurellement et mécaniquement, les DARQ sont différentes des fluoroquinolones et des autres classes de quinoléines par le fait qu'elles possèdent un hétérocycle central particulier. En effet, cet hétérocycle est fonctionnalisé par la présence d'une chaîne latérale en position 3, responsable de l'activité antimycobactérienne. Cette chaîne contient deux centres stéréogènes adjacents : un alcool tertiaire et une amine tertiaire (SONGO, 2019).

❖ **Indication :**

Sirturo® (bédaquiline) est indiqué chez l'adulte, dans le traitement de la tuberculose pulmonaire multi résistante (TB-MDR), en association avec les autres médicaments antituberculeux appropriés, chez des patients adultes.

L'utilisation de la BDQ est préconisée, lorsqu'il est impossible d'employer tout autre schéma thérapeutique efficace, pour des raisons d'intolérance ou de résistance (SONGO, 2019).

❖ **Contre-indication :**

Il y a une contre-indication à l'administration de la BDQ, en cas d'hypersensibilité à la substance ou à l'un de ces excipients (SONGO, 2019).

❖ **Effets indésirables :**

Les effets indésirables les plus fréquents (> 10,0% des patients) pendant le traitement par SIRTURO dans les essais contrôlés étaient des nausées, des arthralgies, des céphalées, des vomissements et des sensations vertigineuses (SONGO, 2019).

6-4. Les associations à doses fixes :

Pour améliorer l'observance et éviter le développement de bacilles résistants, il faut privilégier les associations fixes d'antibiotiques combinés sous une seule forme galénique. A chaque comprimé correspond une composition en milligrammes des différents antituberculeux. Les formes combinées amènent parfois à s'écarter un peu de la posologie moyenne recommandée, en restant néanmoins dans les limites fixées par l'OMS. Cependant, l'adaptation posologique étant impossible avec ces formes, les formes galéniques classiques sont préférentiellement utilisées pour les cas nécessitant des schémas particuliers. En France, les associations disponibles sont le Rifater® qui contient l'isoniazide, la rifampicine et la pyrazinamide, et le Rifinah® qui associe l'isoniazide et rifampicine (BRIAND, 2016).

7. Suivi du traitement :

Il est important de suivre régulièrement les patients traités, de les encourager et de les motiver pour garantir l'observance du traitement et la guérison. L'administration du traitement sous observation directe (TOD), le soutien et l'éducation du patient, l'information de la famille, ainsi qu'une prise en charge rapide et efficace des effets indésirables des médicaments sont les éléments clés pour la réussite du traitement. L'efficacité du traitement est basée sur une évaluation clinique régulière et sur les résultats de laboratoire.

Avant l'initiation du traitement, un bilan initial doit être effectué. Ces résultats des examens cliniques et biologiques permettront d'adapter la posologie des antituberculeux qui doivent être adaptés au poids du patient. Ce bilan initial doit comporter une créatinémie, car la majorité des antituberculeux sont éliminés par voie rénale et une uricémie, le pyrazinamide étant excrété en compétition avec l'acide urique (OMS, 2015).

La surveillance de l'efficacité du traitement se base sur :

- L'examen clinique : le médecin doit apprécier l'amélioration des signes cliniques de la maladie et rechercher d'éventuels effets indésirables avec notamment la surveillance de la température, du poids et de la symptomatique fonctionnelle ;

- La radiographie du thorax : il est recommandé d'effectuer une radiographie thoracique en fin de traitement. Un contrôle radiologique se justifie à 2 mois de traitement pour s'assurer de l'évolution favorable mais n'est pas absolument indispensable ;
- Les examens bactériologiques doivent être réalisés à 2 et 6 mois de traitement antituberculeux et la négativation bactériologique de l'expectoration est généralement obtenue au cours des 2 premiers mois de traitement,
Dans le cas contraire, l'observance thérapeutique du malade doit être vérifiée ainsi qu'une éventuelle résistance du BK, sur les données de l'antibiogramme, Les bascilloscopies et les cultures d'expectorations doivent être effectuées tous les mois avant la conversion des cultures et au moins tous les 2 mois par la suite. Si l'observance thérapeutique est confirmée et en l'absence de résistance du BK, le traitement initial sera maintenu et la recherche de BK dans les crachats sera répétée à la fin du 3ème mois. Le traitement d'entretien sera démarré à la négativation de cet examen ;
- En cas de tuberculose pulmonaire à microscopie négative : L'efficacité du traitement s'apprécie sur l'évolution clinique et radiologique ;
- En cas de tuberculose extra pulmonaire : L'efficacité du traitement s'apprécie sur l'évolution clinique et sur différents examens complémentaires (biologie, imagerie) jugés nécessaires par le spécialiste concerné (OMS, 2015).

B. METHODES ET TECHNIQUES DE CONTROLE QUALITE DES MEDICAMENTS :

Tel que défini par les bonnes pratiques de fabrication des produits pharmaceutiques (B.P.F), le contrôle de la qualité est la partie des BPF qui concerne l'échantillonnage, l'établissement des spécifications et le contrôle, ainsi que les procédures

➤ **Objectif du contrôle de qualité**

L'objectif recherché dans le contrôle de qualité des médicaments, particulièrement les antituberculeux est de vérifier la fiabilité de ces médicaments afin de contribuer à la lutte contre la tuberculose.

1. La Notion de qualité des médicaments :

La qualité, en général se définit comme étant l'attitude d'un produit, d'un procédé ou d'un service rendu, destiné à satisfaire les besoins exprimés et implicites de l'utilisateur.

La désignation qualité appliquée à un médicament exige qu'il contienne la quantité de chaque principe actif inscrite sur l'étiquette dans les limites applicable dans ses spécifications ; qu'il contienne cette quantité dans chaque zone unitaire ; qu'il soit exempt de substances étrangères ; qu'il maintienne son dosage, sa biodisponibilité thérapeutique, son apparence jusqu'à l'utilisation et jusqu'après administration, il libère le principe actif avec une entière biodisponibilité (ADAMA, 2013).

2. Bonnes Pratiques de Fabrication des produits pharmaceutiques (B.P.F) :

Il s'agit des éléments de l'assurance qualité. Les B.P.F garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon uniforme et selon les normes de qualité adaptées à leur utilisation et spécifiées dans l'autorisation de mise sur le marché. Les BPF visent principalement à diminuer les risques, inhérents à toute production pharmaceutique, qui ne peuvent être complètement éliminés par le contrôle des produits finis. Ces risques sont essentiellement de deux types :

- Contamination croisée (en particulier par des contaminants inattendus) ;
- Confusions dues à des erreurs d'étiquetage des récipients (ADAMA, 2013).

3. Autorisation de mise sur le marché :

L'AMM donne des renseignements permettant de contrôler la qualité, l'efficacité et l'innocuité d'un produit. Elle informe sur : la composition et la formulation détaillée du produit,

l'identification de ses principes actifs, l'interchangeabilité chimique, le conditionnement, la durée de conservation et l'étiquetage (ADAMA, 2013).

4. Techniques d'analyses utilisées

4-1. Contrôle organoleptique ou visuel

Toutes les préparations pharmaceutiques doivent être conformes aux normes d'étiquetage spécifiées dans les bonnes pratiques de fabrication. Les indications suivantes doivent figurer sur l'étiquette du récipient :

- Nom du médicament ;
- Nom du ou des principe (s) actif (s) ;
- Quantité du ou des principe (s) actif (s) présente dans chaque comprimé et nombre de comprimés dans le récipient ;
- La quantité du ou des principe (s) actif (s) présente dans un volume correspondant à une unité de prise et de volume contenu dans le récipient ;
- Numéro de lot attribué par le fabricant ;
- Date de péremption et, s'il y a lieu, date de fabrication ;
- Conditions particulières de conservation ou précautions à prendre lors de la manipulation ;
- Nom et adresse du fabricant (OUSMANE, 2011).

4-2. Essais :

Ces essais ont été faits en utilisant les pharmacopées.

4-2-1. La masse moyenne

❖ Cas des comprimés :

Il consiste à peser individuellement 20 unités ou pour les préparations uni doses présentées en récipients individuels, le contenu de 20 unités prélevées au hasard et déterminer la masse moyenne. (OUSMANE, 2011).

❖ Cas des gélules :

Il consiste à peser une gélule pleine, Sans perdre de fragments de l'enveloppe, ouvrir la gélule et la vider aussi complètement que possible, Peser l'enveloppe et calculer la masse du contenu par différence. Répéter l'opération sur 19 autres gélules (Bostanabad *et al.*, 2007).

4-2-2. Volume moyen :

Cet essai s'applique aux préparations liquides (solutions, émulsions et suspensions) et semi-solides conditionnées (BENFENATKI, 2009) :

➤ Préparations liquides :

Il consiste à vider un récipient aussi complètement que possible et déterminer, selon le cas, la masse ou le volume de son contenu. Dans le cas des émulsions et des suspensions, agiter le récipient avant la détermination. Le résultat obtenu n'est pas inférieur à la valeur indiquée sur l'étiquette.

➤ Préparations semi-solides :

Il consiste à vider un récipient aussi complètement que possible et déterminer la masse ou le volume de son contenu. Le résultat obtenu n'est pas inférieur à la valeur indiquée sur l'étiquette

4-3. Test de désagrégation :

Cet essai est destiné à déterminer l'aptitude des comprimés et des gélules à se désagréger en milieu liquide, dans le temps prescrit. En utilisant l'appareil de désagrégation dans les conditions expérimentales, la désagrégation est considérée comme atteinte lorsque :

- il n'y a plus de résidu sur la grille ou,
- s'il subsiste un résidu, ce dernier est constitué seulement par une masse molle ne comportant pas de noyau palpable et non imprégné, ou - sur la grille, il ne subsiste que des fragments d'enrobage (comprimés) ou des fragments d'enveloppe qui peuvent éventuellement adhérer à la face inférieure du disque (gélules) (PHARMACOPEE INTERNATIONALE, 2011).

4-4. Le test de dissolution :

Le test de dissolution permet de déterminer la vitesse de dissolution et le taux de libération des principes actifs des formes solides comme les comprimés et les capsules en utilisant un appareil déterminé et dans des conditions opératoires bien définies. Il permet l'estimation de la libération du principe actif de sa forme galénique dans le tractus digestif (KOUASSI, 2020).

Ce test permet de :

- Connaître la solubilité du principe actif ;
- Aider à l'optimisation de la formule et du processus de fabrication ;

- Assurer la qualité et les performances des produits pharmaceutiques ;
- Comparer des profils de dissolution entre princeps et générique (KOUASSI, 2020).

Le Dissolu test comprend :

- ❖ Un récipient cylindrique muni d'un couvercle ;
- ❖ Un agitateur constitué d'une tige qui se termine par le mobile tournant ;
- ❖ Un bain d'eau avec Thermostat ($37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}^{\circ}$) (KOUASSI, 2020).

4-5. Détermination du pH :

Le pH est un nombre caractéristique d'une solution : Il représente par convention son acidité ou son alcalinité (ADAMA, 2013).

5. Identification

Les épreuves utilisées servent à vérifier l'identité de la substance décrite dans la monographie; il appartient à l'analyste de juger des épreuves requises, compte tenu de l'appareillage disponible. Il est généralement admis que l'examen du spectre infrarouge constitue la meilleure méthode d'identification

5-1. Tests colorés :

Les tests colorimétriques font appel à des réactions engendrées par une fonction chimique ou un ensemble de fonctions. Il s'agit d'ajouter dans un tube à essai, à une quantité déterminée de la substance à analyser, une quantité déterminée de réactif approprié et il se produit instantanément au bout d'un certain temps, une coloration (ADAMA, 2013).

5-2. Chromatographie sur Couche Mince

5-2-1. Définition :

La chromatographie sur couche mince (CCM) selon Ergon STAHL est une méthode de séparation physico-chimique. La séparation chromatographique est basée sur la différence de séparation d'un analyte entre une phase mobile et une phase stationnaire (ABDOULAYE S, 2005).

5-2-2. Développement de la CCM :

Dans la chromatographie sur couche mince, la phase stationnaire est constituée d'une fine couche (0,20 mm en général) de substance séchée (gel de silice, kieselgur, alumine, cellulose) déposée sur un support (plaque de verre, d'aluminium et en plastique).

La phase mobile est constituée par un solvant ou un mélange de solvant qui migre le long de la plaque. Cette migration ou développement s'effectue dans une chambre de migration chromatographique (ou chambre d'élution) qui est préférablement en verre afin de permettre une visualisation de la progression du solvant.

Lorsqu'on utilise la chromatographie sur couche mince pour identifier un produit, on peut comparer le profil chromatographique obtenu avec la solution du produit à examiner à celui obtenu avec la solution étalon du même produit. Si on obtient le même spot dans les deux cas, on peut supposer qu'il s'agit de la même substance. Il est pratique également de définir le R_f qui, correspond à la distance parcourue par la substance sur la distance parcourue par la phase mobile (front de migration) ; la mesure s'effectuant à partir du point de dépôt.

La chromatographie sur couche mince permet également la détermination semi-quantitative de produit en solution en comparant l'intensité (ABDOULAYE, 2005).

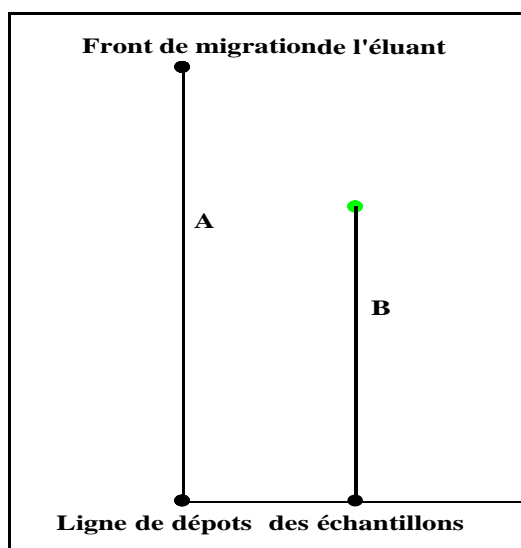


Figure 19 : Profil chromatographique d'une plaque CCM

A = distance de migration du solvant

B = distance de migration de la substance à analyser

5-2-3. Rapport frontal (R_f) et avantages de la CCM :

Le rapport frontal (R_f) exprime le rapport entre la distance parcourue par la substance à analyser et la distance parcourue par le front de la phase mobile. Ces distances sont mesurées à partir de la ligne de départ correspondant au centre de dépôt initial du mélange à séparer jusqu'au centre du ou des spot(s) et au front du solvant. Il faut noter que chaque substance possède un R_f dans un système chromatographique donné (OUSMANE, 2011).

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le front du solvant}}$$

5-2-4. Choix du système (OUSMANE, 2011) :

En chromatographie, au moins trois éléments interviennent dans le choix du système chromatographique. Il s'agit de la phase stationnaire, la phase mobile et le mélange de substances à séparer.

- Le choix de la méthode chromatographique sur couche mince (adsorption, partage et échange d'ions) est déterminé par la nature de la phase stationnaire utilisée.

❖ Choix de la phase stationnaire :

Le gel de silice est la phase stationnaire la plus importante et la plus utilisée. Il en existe de différentes sortes suivantes qu'il contient ou non un agent liant ou un indicateur de fluorescence. Chimiquement, le gel de silice est constitué d'anhydride poly silicique sous forme de grains durs et poreux. Il est particulièrement adapté à la chromatographie des substances polaires par suite de la possibilité pour ces dernières de former des liaisons hydrogènes avec les hydroxyles attachés au squelette silicieux.

❖ Choix de la phase mobile :

Le choix de la phase mobile (qui est un solvant ou un mélange de solvants) dépend avant tout de la polarité des constituants de l'échantillon et de la phase stationnaire.

Ces deux phases doivent avoir des polarités opposées.

5-2-5. La CCM présente les avantages ci-après :

- ❖ La rapidité d'exécution (1 à 2 heures) ;
- ❖ La simplicité d'exécution ;
- ❖ Le coût modeste ;
- ❖ La sensibilité de l'ordre des microgrammes (μg) ;
- ❖ La reproductibilité.

5-2-6. Règle d'interprétation des résultats (EL HADJI SENY, 2010)

- ❖ Quand le pourcentage de rapport frontal est inférieur ou égal à 5%, l'échantillon peut être considéré comme conforme ;
- ❖ Quand le rapport frontal se situe entre 5% et 10%, l'échantillon peut être considéré comme douteux ;
- ❖ Quand le rapport frontal est supérieur à 10%, l'échantillon peut être considéré comme non conforme.

5-3. Spectrophotométrie UV-visible

5-3-1. Définition

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative et qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée, plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncée par la loi de Beer-Lambert (ADAMA, 2013).

La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier.

On utilise le rapport des densités optiques correspondant à un maximum ou plusieurs maxima d'absorptions. Le spectre d'absorption de l'échantillon dans le domaine UV comparé à celui d'une substance de référence. La substance de référence est préparée dans les mêmes conditions que la substance à examiner (ADAMA, 2013).

5-3-2. Principe :

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution connue (CAMARA, 2013) :

$$A = - \text{Log} (I/I_0)$$

On parle aussi de la transmittance définie par la relation :

$$T = I/I_0 \quad \text{alors } A = - \log T \quad \text{ou} \quad - A = \text{Log} T$$

A = Absorbance ou la densité optique

T = Transmittance

I = Intensité incidente

I₀ = Intensité émergente

L'absorbance est une valeur positive. La relation de Beer-Lambert décrit qu'à une longueur d'onde λ donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à la concentration des espèces de la solution et à la longueur du trajet optique (distance sur laquelle la lumière traverse la solution). Alors, pour une solution limpide contenant une seule espèce absorbante :

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

A = Absorbance ou la densité optique (sans unité) ;

ϵ = Coefficient d'extinction molaire de l'espèce absorbante en solution ;

L = Longueur du trajet optique ;

C = Concentration de l'espèce absorbante.

Le domaine du spectre ultraviolet utilisable en analyse s'étend environ de 190 à 400 nm. Le domaine du spectre visible s'étend environ de 400 à 800 nm.

L'analyse spectrophotométrique est fondée sur l'étude de l'absorption de la lumière par une substance, en fonction de la variation de sa concentration. On détermine la concentration d'une substance en mesurant l'absorption relative de la lumière par rapport à celle d'une substance de concentration connue.

En analyse spectrophotométrique, on utilise une lumière monochromatique. Ces méthodes d'analyse sont intéressantes car elles permettent de travailler sur de faibles quantités de substances. Elles s'appliquent à un très grand nombre de dosages.

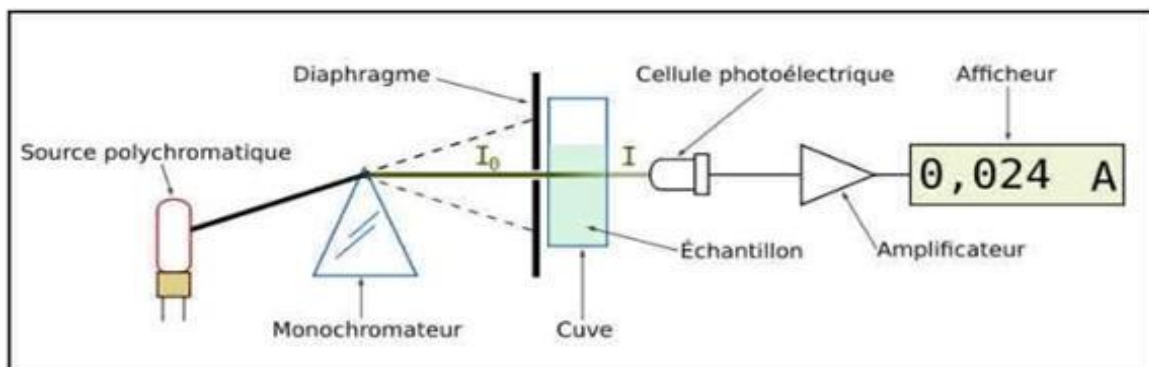


Figure 20: Schéma d'un spectrophotomètre à double faisceau

5-3-3. Différentes parties d'un spectrophotomètre UV / Visible

Un spectrophotomètre comprend 3 parties essentielles

➤ Source lumineuse :

Elle est constituée par une lampe à décharge au deutérium utilisée dans le domaine de 190 à 400 nm avec un maximum d'émission à 652,1nm. Une lampe à filament de tungstène pour la région allant de 350 à 800 nm. Une lampe à décharge au xénon utilisée dans le domaine UV et visible. Ce type de lampe est très énergétique. Elle fonctionne sous forme de flash, juste au moment de faire une mesure (ADAMA, 2013).

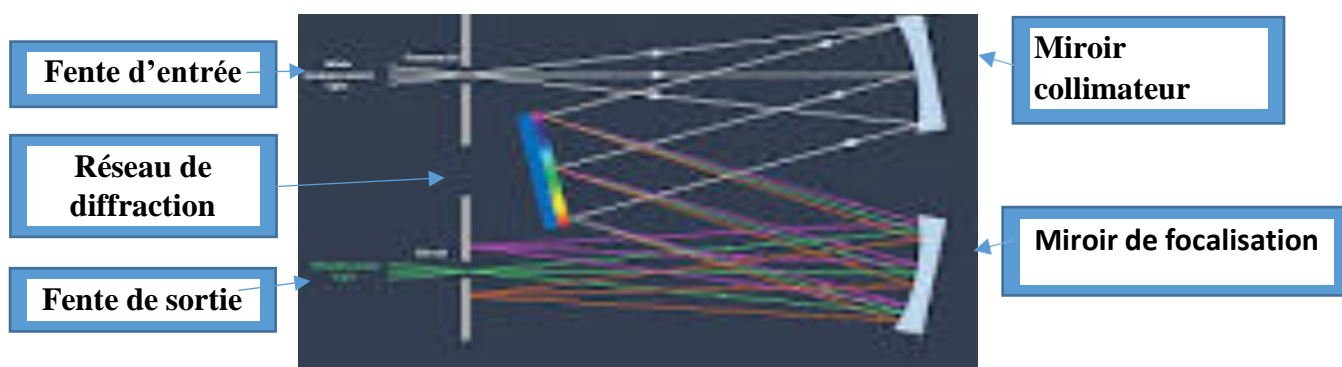


Figure 21 : Monochromateur à réseau (ADAMA, 2013)

L'élément de base est un prisme, un réseau ou un filtre coloré. Le rôle du monochromateur est d'isoler le rayonnement sur lequel on fait la mesure. Il est composé principalement d'un système dispersif, d'une fente d'entrée et d'une fente de sortie (ADAMA, 2013).

➤ Cuve :

Elle contient soit l'échantillon, soit la référence. La longueur de la cuve est définie (1, 2, 4 ou 5cm de trajet optique). Elle doit être transparente aux radiations d'étude. Par exemple en UV, les cuves sont en quartz, elles ne peuvent être ni en verre ni en plastique (ADAMA, 2013).

➤ Détecteur

Lorsqu'un photon rencontre un semi-conducteur, il peut transférer un électron de la bande de valence (niveau énergétique bas) vers la bande de conduction (niveau énergétique haut) en créant une paire : électron - trou. Le nombre de paires électrons - trous est fonction de la

quantité de lumière reçue par le semi-conducteur qui peut donc être utilisé en tant que détecteur optique (BOSTANABAD, 2007).

5-4. Dosage chimique par titration

Principe d'un dosage : Doser (ou titrer) une espèce chimique (molécule ou ion) en solution, c'est déterminer sa concentration molaire dans la solution considérée. Dans le cas d'un dosage destructif ou direct, on utilise une réaction chimique. On utilise une solution titrante contenant un réactif titrant choisi en fonction de l'espèce à doser. Les solutions sont placées comme sur le schéma ci-contre :

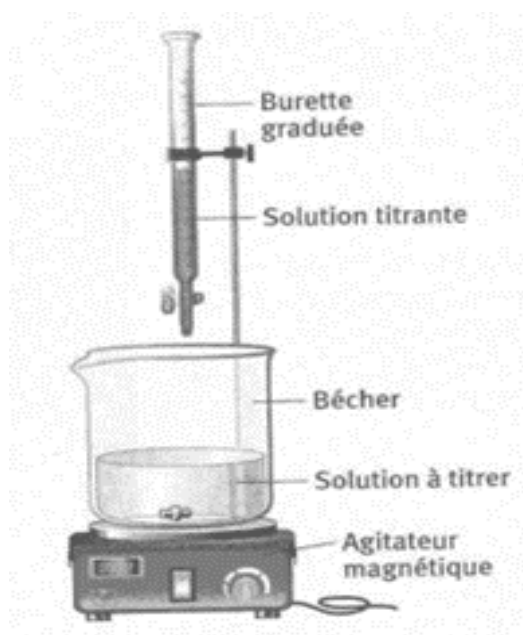


Figure 22 : Dosage chimique (titration)

5-5. Dosage par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance) :

5-5-1. Définition :

La chromatographie est une méthode d'analyse et de séparation des constituants d'un mélange en fonction de leurs affinités pour deux phases : la phase mobile et la phase stationnaire.

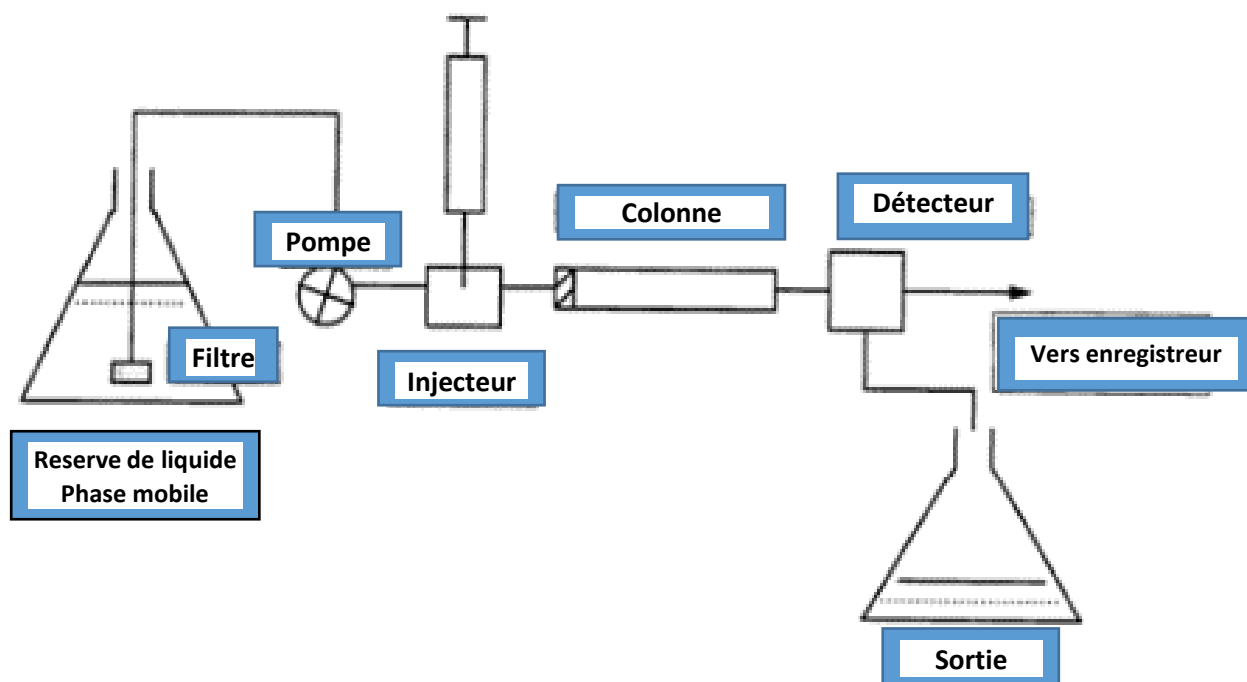


Figure 23 : Principe de fonctionnement d'un appareil HPLC (AMINATA, 2011).

5-5-2. Les parties du HPLC :

5-5-2-1. Un réservoir de solvant (éluant) :

Qui contient la phase mobile en quantité suffisante. Plusieurs flacons d'éluant (solvants de polarité différente) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'élution (mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables) à l'aide de la pompe doseuse (AMINATA, 2011).

5-5-2-2. La pompe :

Elle est munie d'un système de gradient permettant d'effectuer une programmation de la nature du solvant. Elle permet de travailler :

- en mode isocratique, c'est-à-dire avec 100% d'un même éluant tout au long de l'analyse.
- en mode gradient, c'est-à-dire avec une variation de la concentration des constituants du mélange d'éluant. Les pompes actuelles ont un débit variable de quelques μL à plusieurs ml/min.

5-5-2-3. Vanne d'injection :

C'est un injecteur à boucles d'échantillonnage. Il existe des boucles de différents volumes, nous utiliserons une boucle de $20\mu\text{L}$. Le choix du volume de la boucle se fait en fonction de la taille de la colonne et de la concentration supposée des produits à analyser. Le système de la

boucle d'injection permet d'avoir un volume injecté constant, ce qui est important pour l'analyse quantitative (AMINATA, 2011).

5-5-2-4. La colonne :

Une colonne est un tube construit dans un matériau le plus possible inerte aux produits chimiques, souvent en inox ou en verre. Sa section est constante, de diamètre compris entre 4 et 20 mm pour des longueurs généralement de 15 à 30 cm. Au-delà, les importantes pertes de charges exigeraient des pressions de liquide beaucoup trop élevées (AMINATA, 2011).

5-5-2-5. La phase stationnaire :

- **La phase normale** : la phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaires qui sortent en tête.

L'inconvénient d'une telle phase, c'est une détérioration rapide au cours du temps du gel de silice, ce qui entraîne un manque de reproductibilité des séparations.

- **La phase inverse** : la phase inverse est majoritairement composée de silices greffées par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C8 et C18). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (ACN, MeOH, H₂O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier.

Contrairement à une phase normale, il n'y a pas d'évolution de la phase stationnaire au cours du temps et la qualité de la séparation est donc maintenue constante.

- **La phase mobile** : l'interaction plus ou moins forte entre la phase mobile et la phase stationnaire normale ou à polarité inversée se répercute sur les temps de rétention des solutés.

La polarité de la phase stationnaire permet de distinguer deux situations de principe :

- si la phase stationnaire est polaire, on utilisera une phase mobile peu polaire, la chromatographie est dite en phase normale ;

- si la phase stationnaire est très peu polaire, on choisira une phase mobile polaire (le plus souvent des mélanges de méthanol ou d'acétonitrile avec de l'eau), c'est la chromatographie en phase inverse. En modifiant la polarité de la phase mobile, on agit sur les facteurs de rétention k des composés.

Les silices greffées conduisent en général à une perte importante de polarité. Avec une phase greffée, l'ordre d'éluion est opposé à celui auquel on est habitué avec les phases normales. Ainsi, avec un éluant polaire, un composé polaire migre plus vite qu'un composé apolaire.

Dans ces conditions, les hydrocarbures sont fortement retenus. On réalise des gradients d'élution en diminuant au cours de la séparation la polarité de l'éluant (ex : mélange eau /acétonitrile dont la concentration en acétonitrile va en croissant au cours de l'élution). On peut, en mélangeant plusieurs solvants, ajuster le pouvoir d'élution de la phase mobile (AMINATA, 2011).

5-5-2-6. Détecteurs :

➤ Deux types de détecteurs sont classiquement utilisés :

***Détecteur UV-visible :** il mesure l'absorption de la lumière par le produit à la sortie de la colonne. Et opère à longueur d'onde constante, celle-ci ayant été fixée par l'opérateur. La lampe Deutérium est utilisée pour des longueurs d'ondes variant de 190-350 nm et la lampe à vapeur de mercure est utilisée à la longueur d'onde non variable de 254 nm. Pour que ce type de détecteur soit utilisable, il faut que :

- le produit à détecter absorbe la lumière à une longueur d'onde accessible à l'appareil, et que son coefficient d'absorption soit suffisamment grand ;
- la phase mobile n'absorbe pas la lumière à la longueur d'onde choisie par l'opérateur.

*** Détecteur à réfractomètre :** il mesure la variation de l'indice de réfraction du liquide à la sortie de la colonne. Cette mesure, extrêmement précise, dépend néanmoins de la température du liquide. On compare cet indice avec celui de la phase mobile pure : il y a donc une référence d'où le terme de variation de l'indice. Ce détecteur exclut les variations de la composition de la phase mobile ; il n'est donc possible de travailler qu'en mode isocratique avec ce détecteur. Les données sont collectées par l'intermédiaire soit d'un intégrateur ou d'une station d'acquisition (AMINATA, 2011).

Une étude réalisée en République démocratique du Congo (RDC) par P. MWAMBA en 2020 approuve que le HPLC est la technique de référence la plus recommandée et utilisée dans le contrôle de qualité des antibiotiques (PIERROT, 2020) ;

Puis s'ensuivent les méthodes spectroscopiques qui conviennent le mieux à des analyses qualitatives et quantitatives des médicaments présentés en monothérapie. Par rapport à l'HPLC cette méthode présente l'inconvénient de ne pas s'approprier à l'analyse des composés l'état de trace et d'impuretés (AMINATA, 2011).

METHODOLOGIE

III) METHODOLOGIE

1. Type et période d'étude :

Il s'agissait d'une étude analytique de type prospective, qualitative et quantitative qui portait sur l'analyse des lots d'échantillons d'antituberculeux reçus et analysés au Laboratoire National de la Santé du Mali. La période était comprise entre août 2021 à juin 2022 soit 10 mois.

2. Lieu d'étude :

L'étude s'est déroulée au Service de Contrôle Qualité des Médicaments (SCQM) au Laboratoire National de la Santé (LNS) à Bamako (Mali).

❖ Description du lieu d'étude :

Sis à Darsalam, intersection des Rues 569 et 618, Porte 442. Le LNS a été créé conformément à l'article 2 de l'ordonnance N°00-040/P-RM du 20 Septembre 2000 portant création du LNS-EPST (Etablissement Public à Caractère Scientifique et Technologique).

❖ Organisation du laboratoire :

Le LNS est dirigé par un Directeur Général nommé par Décret pris en Conseil des Ministres sur proposition du Ministre en charge de la santé. Le Directeur est chargé sous l'autorité du Ministre en charge de la santé, de coordonner et de contrôler les activités du service défini ci-dessous. Le personnel est composé de pharmaciens, d'ingénieurs (agro-alimentaires et biologistes), de techniciens chimistes et de santé, de comptables, de secrétaires d'administration et de personnel de soutien. Le personnel du Laboratoire National de la Santé est constitué à 90% de personnel permanent (fonctionnaires) et de 10% de personnel non permanent (contractuels). Les organes d'administration et de gestion du laboratoire national de la santé sont :

- Le Conseil d'Administration ;
- La Direction Générale ;
- Le Comité Scientifique et Technologique.

❖ Mission :

Le LNS-EPST, a pour mission de contrôler la qualité des médicaments, des boissons, des aliments ou toutes autres substances importées ou produites en république du Mali et destinées à des fins thérapeutiques, diététiques, ou alimentaires en vue de la sauvegarde de la santé des populations humaines et animales. À ce titre, il est chargé de :

- Donner son avis technique pour l'autorisation ou l'interdiction de l'usage de tout produit ; médicament, aliment, ou boisson à usage thérapeutique, diététique ou alimentaire
- Prélever et analyser des échantillons dans toute unité de production, d'importation, de distribution, de conservation de médicaments, eaux, boissons diverses, aliments et toutes autres substances introduites dans l'organisme humain et animal dans le but thérapeutique, nutritionnel ou autre et concourant à l'amélioration ou à la détérioration de l'état de santé de l'homme et de l'animal ;
- Participer à la formation universitaire et post universitaire ;
- Entreprendre des activités de recherche scientifique et technologique ;
- Contribuer à l'élaboration des normes et de veiller à leur application.

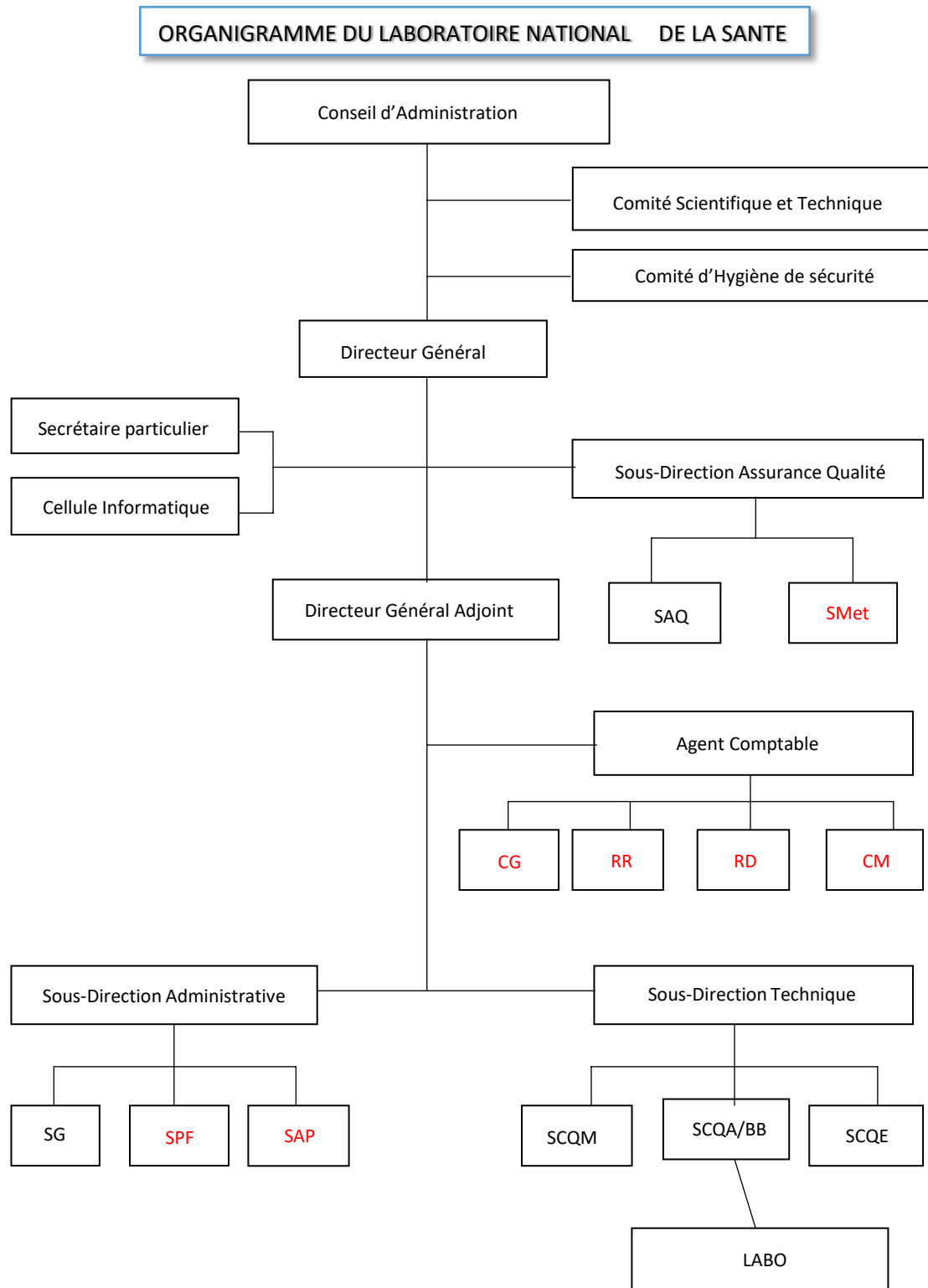


Figure 24 : Organigramme général du Laboratoire National de la Santé

Liste des abréviations

AC : Agent comptable

CG : Comptabilité Générale

CI : Cellule Informatique

CM : Comptabilité Matière

R/MD : Responsable Métrologie et Documentation

RAQ : Responsable Assurance Qualité

RD : Régie des Dépenses

RR : Régie des Recettes

S/RAQ : Suppléant RAQ

SAP : Service des Approvisionnement

SG : Secrétariat Général

SP : Secrétariat Particulier

SPF : Service du personnel et de la Formation

3. Echantillonnage

Notre échantillonnage était constitué de 33 lots de médicament d'antituberculeux. Chaque lot d'échantillon était constitué de 100-112 comprimés selon la présentation. Les prélèvements ont été effectués dans le district de Bamako à la Pharmacie Populaire du Mali (PPM).

Technique de prélèvement :

Tous les échantillons prélevés ont été codifiés et étiquetés. Leur code indique : la date de prélèvement ; le lieu de prélèvement ; la quantité prélevée ; la désignation du produit ; la forme galénique ; le numéro de lot ; le dosage en principe actif ; la date de fabrication ; la date de péremption ; le laboratoire de fabrication et le pays d'origine du produit.

4. Les matériels :

Tableau II : les instruments d'analyses, les réactifs/solvants et les appareils utilisés

Instruments d'analyses et autres accessoires	Réactifs /Solvants	Appareillage
Mortier et pilon ; Béchers de 5 à 1000 mL ; Pipettes graduées et jaugées toutes mesures ; Poires ; Erlenmeyer 250 mL ; Ballons et Cylindres gradués de 100 mL ; Papiers filtres ; Entonnoir ; Pissette ; Spatule et pince ; Burette graduée 25 mL ; Ampoule à décanter 100 à 250 mL ; Boite de Pétri.	Acide acétique anhydre 1N ; Acide sulfurique 1N ; Acide chlorhydrique 0.1N ; Hydroxyde de Sodium 0.1N Acide acétique glacial R ; Dichlorométhane 99% ; Chloroforme ; Bromure de potassium ; Bromate de potassium ; Eau distillée ; Ammoniaque à 25% ; Vapeur d'iode ; Méthanol 99% (pour CLHP).	Spectrophotomètre Agilent 8453 1EL-02-064 ; CLHP Agilent 1100 pompe quaternaire G7111B 1EL-18-430 pH mètre WTW Inolab 7310 ; Lampe à rayonnement UV à 254 - 366nm ; Etuve WTC binder ; Bain-Marie ; Agitateur Magnétique HI 190M ; Balance électronique Radwag 1EL-21-421 ; Plaque chauffante ; Dissolu tess Erweka DT 700 1EL-06-117 à 6 cellules ; Hotte 1EL-XX-289.

5. Méthodes d'analyses :

5-1. Examen visuel ou contrôle des caractères organoleptiques :

L'examen visuel consiste à la vérification des informations sur l'étiquette, à prélever au moins 20 comprimés par lot de leur conditionnement et à les examiner visuellement. Il nous permet d'apprécier la forme, l'aspect, la couleur, le poids et l'odeur etc...

Sur le conditionnement, nous avons vérifié que les informations suivantes qui doivent figurer normalement sur les emballages des médicaments : nom du produit, nom des principes actifs, date de fabrication et de péremption du produit, nom et adresse du fabricant.

En termes d'apparence physique et caractère organoleptique nous avons vérifié l'aspect, la couleur, l'odeur, la forme des comprimés.

5-2. Détermination de la masse moyenne

La masse moyenne est un test qui permet de déterminer le pourcentage des variations de poids entre les unités d'une préparation pharmaceutique d'un seul et même lot, visant à la recherche d'une uniformité de masse, elle concerne les formes solides.

Selon la Pharmacopée Internationale édition 2020, nous avons pesé ensemble 20 comprimés de façon aléatoire pour ensuite faire la moyenne des 20 comprimés comme suit :

$$\text{Masse des 20 comprimés}$$
$$\text{La masse moyenne} = \frac{\text{-----}}{20}$$

5-3. Test de désagrégation :

Selon la Pharmacopée Européenne, la désagrégation est un essai destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des comprimés et des capsules à se désagréger, en milieu liquide à 37°C plus ou moins 2 sous agitation, dans le temps prescrit. Elle est dite complète s'il n'y a plus de résidu solide.

Ceci étant, nous avons chauffé le bain-marie de l'appareil à désagrégation. Nous avons mis 700 mL d'eau dans chaque bécher de 1L, les bécchers ont été mis dans le bain-marie.

Nous avons procédé ensuite à la vérification de la température à l'aide d'un thermomètre jusqu'à obtenir 37°C plus ou moins 2. Nous avons ensuite introduit les médicaments dans les 6 cellules de désagrégation et mettre le moteur en marche puis la mise en marche automatique

d'un chronomètre. Nous nous sommes rassurés du mouvement vertical du panier en route et attendre une fois qu'il n'y est plus de résidu sur la grille, nous avons porté la valeur du temps et arrêté le moteur.

5-4. Identification du principe actif :

Pour identifier le principe actif des molécules étudiées, nous avons utilisé :

- la chromatographie sur couche mince (CCM) ;
- la spectrophotométrie UV/Visible.

5-4-1. Identification par chromatographie sur couche mince :

Elle a été utilisée pour tous les lots d'échantillons d'antituberculeux de notre analyse.

Pour réaliser cette analyse nous avons utilisé la méthode décrite par la Pharmacopée Internationale édition 2020.

➤ **Ech N°21-01: RMP-INH-PZA-EMB**

Cette méthode est commune à tous les lots d'échantillons contenant les principes actifs : RMP-INH-PZA-EMB

Mode opératoire :

La plaque de gel de silice a été utilisée comme phase stationnaire d'adsorption.

Standard : Nous avons dilué 1mg d'isoniazide RS et des quantités proportionnelles (selon le rapport dans le comprimé) par mL de méthanol.

Echantillon : 5 mg de prise d'essai d'isoniazide ont été dilués dans un bécher avec 5 mL de méthanol afin d'avoir une concentration de 1 mg/mL. Nous avons agité la solution pendant 15 min puis filtré et utilisé le filtrat pour le spotage.

Un dépôt de 2 µL de chaque solution a été effectué par la suite sur le bord inférieur de la plaque à la distance de 1,5 cm à l'aide de tubes capillaires.

Nous avons vérifié l'uniformité des dépôts sous la lampe UV à 254 nm.

Phase mobile : Nous avons introduit un mélange de 100 mL de méthanol avec 1,5 mL de solution ammoniacale forte dans une cuve chromatographique, fermée pendant au moins 15 min. Les plaques ont ensuite été déposées dans la cuve et l'élution de la phase mobile a été observée jusqu'au niveau de la ligne de front.

Révélation des taches :

A la fin de la migration les plaques ont été retirées de la chambre chromatographique d'élution, séchées pour éliminer toute trace de solvant. Elles sont ensuite placées dans la

vapeur du diiode pendant quelques minutes (5 min maximum) jusqu'à l'apparition des taches visibles à l'œil nu.

Avant révélation au diiode, les plaques ont été observées à la lumière ultraviolette à 254 nm pour répertorier les taches.

Interprétation :

Les taches principales obtenues après différentes révélations doivent correspondre en position et intensité à celles obtenues avec les standards (Pharmacopée Internationale, 2020).

➤ **Ech N°21-05 : INH**

Cette méthode est commune à tous les lots d'échantillons contenant le principe actif : INH

Mode opératoire :

La plaque de gel de silice a été utilisée comme phase stationnaire d'adsorption.

Standard : Nous avons introduit 10 mg d'isoniazide RS par mL de méthanol R de concentration 10 mg/mL.

Echantillon : 0,1g de prise d'essai d'isoniazide a été dilué avec 10 mL de méthanol dans une fiole de 10 afin d'avoir une concentration de 10 mg/mL. Nous avons agité la solution pendant 15 min, filtrée et nous avons utilisé le filtrat pour le spotage.

Un dépôt de 2 µL de chaque solution a été effectué par la suite sur le bord inférieur de la plaque à la distance de 1,5 cm à l'aide de tubes capillaires.

Nous avons vérifié l'uniformité des dépôts sous la lampe UV à 254 nm.

Phase mobile : Nous avons introduit un mélange de 5 mL d'acétate d'éthyle, 2 mL d'acétone, 2 mL de méthanol et 1 mL d'eau dans une cuve chromatographique, fermée pendant au moins 15min. Les plaques ont ensuite été déposées dans la cuve et l'élution de la phase mobile a été observée jusqu'au niveau de la ligne de front.

Révélation des taches :

A la fin de la migration, les plaques ont été retirées de la chambre chromatographique d'élution, séchées pour éliminer toute trace de solvant.

Nous avons examiné la plaque de CCM à la lumière ultraviolette à 254 nm afin d'observer les taches.

Interprétation :

La tâche principale obtenue doit correspondre en position et intensité à celle obtenue avec le standard (Pharmacopée Internationale, 2020).

➤ **Ech N°22-023 : EMB**

Cette méthode est commune à tous les lots d'échantillons contenant le principe actif : EMB

Mode opératoire :

La plaque de gel de silice a été utilisée comme phase stationnaire d'adsorption.

Standard : Nous avons dilué 1mg d'éthambutol RS avec 1 mL de méthanol afin d'avoir une concentration de 1 mg/mL.

Echantillon : 10 mg de prise d'essai d'éthambutol ont été dilués avec 10 mL de méthanol afin d'avoir une concentration de 1 mg/mL. Nous avons agité pendant 15 min puis filtré et nous avons utilisé le filtrat pour le spotage.

Phase mobile : Nous avons introduit 100 mL de méthanol avec 1,5 mL de solution ammoniacale forte R dans une cuve chromatographique, fermée pendant au moins 15 min. Les plaques ont ensuite été déposées dans la cuve et l'élution de la phase mobile a été observée jusqu'au niveau de la ligne de front.

Révélation des taches :

A la fin de la migration les plaques ont été retirées de la chambre chromatographique d'élution, séchées pour éliminer toute trace de solvant. Elles sont ensuite placées dans la vapeur du diiode pendant quelques minutes (5 min maximum) jusqu'à l'apparition des taches visibles à l'œil nu.

Interprétation :

La tâche principale obtenue avec la solution doit correspondre en position et intensité à celle obtenue avec le standard (Pharmacopée Internationale, 2020)

➤ **Ech N°21-08 : PZA**

Cette méthode est commune à tous les lots d'échantillons contenant le principe actif : PZA

Mode opératoire :

La plaque de gel de silice a été utilisée comme phase stationnaire d'adsorption.

Solution A : 0,1 g de prise d'essai de pyrazinamide a été dilué avec 50 mL d'un mélange de 9 mL de chloroforme et 1 mL de méthanol. Nous avons évaporé le filtrat à sec et dissous le résidu dans un mélange suffisant de solvants pour produire 10 mL.

Solution B : Nous avons dilué 1 mL de la solution A dans une fiole de 500 mL que nous avons complété avec le même mélange de solvants.

Phase mobile : Nous avons introduit de 6 mL de 1-butanol, 2 mL d'acide acétique glacial et 2 mL d'eau dans une cuve chromatographique, fermée pendant au moins 15min. Les plaques

ont ensuite été déposées dans la cuve et l'élution de la phase mobile a été observée jusqu'au niveau de la ligne de front

Révélation des taches :

A la fin de la migration les plaques ont été retirées de la chambre chromatographique d'élution, séchées pour éliminer toute trace de solvant.

Nous avons examiné la plaque de CCM à la lumière ultraviolette à 254 nm afin d'observer les taches.

Interprétation :

Toute tâche obtenue avec la solution A, autre que la tâche principale, n'est plus intense que celle obtenue avec la solution B (Pharmacopée Internationale, 2020).

5-4-2. Identification dans le domaine ultra-violet (UV/Visible) :

La spectrophotométrie est une méthode colorimétrique qui permet de doser et d'identifier par absorption les principes actifs contenus dans une substance chimique à des longueurs d'onde spécifiques. Pour réaliser cette analyse nous avons utilisé la méthode décrite par la pharmacopée internationale édition 2020.

➤ Ech N°21-08 : PZA

Cette méthode est commune à tous les lots d'échantillons contenant le principe actif : PZA

Mode opératoire :

Nous avons prélevé avec précision une quantité de poudre équivalente à 0,1 g de pyrazinamide que nous avons solubilisé dans une fiole de 500 mL en mettant une quantité d'eau distillée et nous laissons au repos pendant 10 minutes en remuant de temps à temps. Ensuite la fiole a été mise dans un bain à ultrasons pendant 10 minutes puis la compléter à 500 mL avec de l'eau distillée afin d'avoir une concentration de 0,2 mg/mL. Nous avons filtré et jeté les 20 premiers mL de filtrat puis dans cette solution nous avons dilué 5 mL du filtrat dans 100 mL d'eau afin d'avoir une concentration finale de 0,01 mg/mL. Nous avons procédé à la lecture au spectrophotomètre UV-Visible à la longueur d'onde 269 nm.

Interprétation :

Nous mesurons l'absorbance de cette solution en couche de 1 cm au maximum à environ 269 nm (Pharmacopée Internationale, 2020).

5-5. Identification et dosage par CLHP :

Nous avons réalisé le dosage par CLHP par lot d'échantillon. Les lots ayant les mêmes principes actifs ont été analysés de la même manière.

➤ Cas de : RMP-INH-PZA-EMB

Mode opératoire :

Les comprimés de rifampicine, d'isoniazide, de pyrazinamide et de chlorhydrate d'éthambutol contiennent au moins 90,0 % et au plus 110,0 %, informations édictées par la Pharmacopée Internationale édition 2020.

Les principes actifs IHN-PZA-RMP ont été analysés ensemble dans un même CLHP, séparément des principes actifs RMP.

❖ Pour INH-PZA-EMB :

Phase mobile : Nous avons dilué 50 g d'acétate d'ammonium et 0,2 g d'acétate de cuivre (II) dans 1000 mL d'eau et nous avons ajusté le pH du mélange à pH 5,0 avec de l'acide acétique glacial R. Nous avons mélangé 940 mL de cette solution avec 60 mL de méthanol ce qui constituait notre phase mobile.

Nous avons préparé les solutions suivantes :

Pour la solution (1) nous avons utilisé une prise d'essai de 100 mg de chlorhydrate d'éthambutol, dans une fiole jaugée de 500 mL d'eau afin d'avoir une concentration de 0.2mg/mL.

Pour la solution (2) nous avons dilué 27,3 mg d'isoniazide RS, 145,5 mg de pyrazinamide RS et 100 mg de chlorhydrate d'éthambutol RS dans 500 mL d'eau (Pharmacopée Internationale, 2020).

Nous avons mis les solutions et les standards dans des vials à l'ordre de microns préalablement lavés et les mettre dans les plateaux de la chaîne CLHP.

Lors de la programmation de l'appareil nous avons utilisé :

- **Colonne C₁₈ :** 15 cm x 4,6 mm remplie de particules de gel de silice
- **Débit :** 2,0 mL par minute
- **Volume d'injection :** 20 µL de solution
- **Détecteur :** Spectrophotomètre Ultraviolet
- **Longueur d'onde :** 240 nm

❖ **Pour RMP :**

Nous avons préparé des solutions fraîches et effectué le dosage sans délai. Une verrerie à faible teneur en actinine est recommandée (Pharmacopée Internationale, 2020).

Phase mobile : Nous avons utilisé un mélange de 6 mL de méthanol R et 4 mL de tampon phosphate pH 7,0 (dihydrogénophosphate de potassium R (0,01 mol/l), puis nous avons ajusté le pH avec la soude (0,1 mol/L) VS).

Nous avons préparé les solutions suivantes :

Pour la solution (1) nous avons agité une quantité de poudre contenant environ 40 mg de Rifampicine, précisément pesée que nous avons dilué dans 200 mL de méthanol R afin d'avoir une concentration de 0,2 mg/mL et filtré la solution.

Pour la solution (2) nous avons dilué 0,20 mg de rifampicine RS par mL de concentration 0,2 mg/mL

Nous avons mis les solutions et le standard dans des vials à l'ordre de microns préalablement lavés et les mettre dans les plateaux de la chaine CLHP.

Lors de la programmation de l'appareil nous avons utilisé :

- **Diluant :** Phase mobile
- **Colonne :** 25 cm x 4,6 mm remplie de particules de gel de silice,
- **Débit :** 1,0 mL par minute.
- **Détecteur :** Spectrophotomètre Ultraviolet
- **Longueur d'onde :** 254 nm.
- **Volume d'injection :** 20 uL

➤ **Cas de : RMP-INH**

Les comprimés dispersibles de rifampicine, d'isoniazide ne contiennent pas moins de 90,0% et pas plus de 110,0%, informations édictées par la Pharmacopée Internationale édition 2020. Ces deux principes actifs ont été analysés séparément.

❖ **Pour INH :**

Phase mobile : Nous avons dilué 50 g d'acétate d'ammonium R dans 1000 mL d'eau et nous avons ajusté le pH à 5,0 avec de l'acide acétique glacial R. Nous avons mélangé 940 mL de cette solution avec 60 mL de méthanol R ce qui constituait la phase mobile.

Nous avons préparé les solutions suivantes :

Pour la solution (1) nous avons agité une quantité de poudre contenant environ 30 mg d'isoniazide dans une fiole de 500 mL d'eau afin d'avoir une concentration de 0.06mg/mL, nous avons agité la solution pendant 15 min et filtré.

Pour la solution (2) nous avons dissous 30 mg d'isoniazide RS dans 500 ml d'eau R de concentration 0,06 mg/mL.

Nous avons mis les solutions et les standards dans des vials à l'ordre de microns préalablement lavés et les mettre dans les plateaux de la chaine CLHP.

Lors de la programmation de l'appareil nous avons utilisé :

- **Colonne C₁₈** : 15 cm x 4,6 mm remplie de particules de gel de silice
- **Débit** : 2,0mL par minute
- **Volume d'injection** : 20 µL de solution
- **Détecteur** : Spectrophotomètre ultraviolet
- **Longueur d'onde** : 240nm

❖ **Pour la RMP :**

Nous avons préparé des solutions fraîches et effectué le dosage sans délai. Une verrerie à faible teneur en actinine est recommandée (Pharmacopée Internationale ; 2020).

Phase mobile : Nous avons utilisé un mélange de 6 volumes de méthanol R et 4 volumes de tampon phosphate pH 7,0 (dihydrogénophosphate de potassium R (0,01 mol/l), ajusté le pH avec la soude (0,1 mol/l) VS).

Nous avons préparé les solutions suivantes :

Pour la solution (1) nous avons agité une quantité de poudre contenant environ 40 mg de Rifampicine, précisément pesée que nous avons diluée dans 200 mL de méthanol R afin d'avoir une concentration de 0,2 mg/mL et filtrée la solution.

Nous avons préparé les solutions suivantes :

La solution (2) nous avons dilué 0,20 mg de rifampicine RS par mL de concentration 0.2mg/mL

Nous avons mis les solutions et le standard dans des vials de l'ordre de microns préalablement lavés et les mettre dans les plateaux de la chaine CLHP.

Lors de la programmation de l'appareil nous avons utilisé :

- **Colonne** : (25 cm x 4,6 mm) remplie de particules de gel de silice,
- **Débit** : 1,0 mL par minute.
- **Détecteur** : Spectrophotomètre Ultraviolet
- **Longueur d'onde** : 254 nm.

- **Volume d'injection** : 20 μ L

➤ **Cas de : RMP-INH-PZA**

Les comprimés dispersibles de rifampicine, d'isoniazide et de pyrazinamide ne contiennent pas moins de 90,0% et pas plus de 110,0% ; informations édictées par la Pharmacopée Internationale édition 2020.

❖ **Pour INH-PZA :**

Phase mobile : Nous avons dilué 50 g d'acétate d'ammonium R dans 1000 mL d'eau et nous avons ajusté le pH à 5,0 avec de l'acide acétique glacial R. Nous avons mélangé 940 mL de cette solution avec 60 mL de méthanol R ce qui constituait la phase mobile.

Nous avons préparé les solutions suivantes :

Pour la solution (1) : Nous avons agité une quantité de poudre contenant environ 30 mg d'isoniazide dans une fiole de 500 mL d'eau afin d'avoir une concentration de 0.06mg/mL, nous avons agité la solution pendant 15 min et filtré.

Pour la solution (2) : Nous avons dissous 30 mg d'isoniazide RS et une quantité proportionnelle (selon le rapport dans le comprimé) de pyrazinamide RS dans 500 ml d'eau R (Pharmacopée Internationale, 2020).

Nous avons mis les solutions et les standards dans des vials de l'ordre de microns préalablement lavés et les mettre dans les plateaux de la chaine CLHP.

Lors de la programmation de l'appareil nous avons utilisé :

- **Colonne C₁₈** : 15 cm x 4,6 mm remplie de particules de gel de silice
- **Débit** : 2,0 mL par minute
- **Volume d'injection** : 20 μ L de solution
- **Détecteur** : Spectrophotomètre Ultraviolet
- **Longueur d'onde** : 240 nm

❖ **Pour la RMP :**

Nous avons préparé des solutions fraîches et effectué le dosage sans délai. Une verrerie à faible teneur en actinine est recommandée (Pharmacopée Internationale, 2020).

Phase mobile : Nous avons utilisé un mélange de 6 mL de méthanol et 4 mL de tampon phosphate pH 7,0 (dihydrogénophosphate de potassium R (0,01 mol/L), puis nous avons ajusté le pH avec la soude (0,1 mol/L) VS).

Nous avons préparé les solutions suivantes :

Pour la solution (1) nous avons agité une quantité de poudre contenant environ 40 mg de Rifampicine, précisément pesée que nous avons diluée dans 200 mL de méthanol R afin d'avoir une concentration de 0.2mg/mL et filtrée la solution.

Pour la solution (2) nous avons dilué 0,20 mg de rifampicine RS par mL de concentration 0,2 mg/mL.

Nous avons mis les solutions et le standard dans des vials de l'ordre de microns préalablement lavés et les mettre dans les plateaux de la chaine CLHP.

Lors de la programmation de l'appareil nous avons utilisé :

- **Colonne :** (25 cm x 4,6 mm) remplie de particules de gel de silice,
- **Débit :** 1,0 mL par minute.
- **Détecteur :** Spectrophotomètre Ultraviolet
- **Longueur d'onde :** 254 nm.
- **Volume d'injection :** 20 µL

➤ **Cas de :** EMB

Phase mobile : Nous avons dilué 50 g d'acétate d'ammonium R et 0,2 g d'acétate de cuivre (II) R dans 1000 mL d'eau et nous avons ajusté le pH à 5,0 avec de l'acide acétique glacial R. Nous avons mélangé 940 mL de cette solution avec 60 mL de méthanol R ce qui constitue la phase mobile. Nous avons préparé les solutions suivantes :

Pour la solution (1) nous avons dilué une prise d'essai de 100 mg de chlorhydrate d'éthambutol, dans une fiole jaugée de 500 mL afin d'avoir une concentration de 0.2 mg/mL.

Pour la solution (2) nous avons dilué 20 mg d'éthambutol RS dans une fiole de 100 mL.

Diluant : Eau (Pharmacopée Internationale, 2020).

Nous avons mis les solutions et le standard dans des vials de l'ordre de microns préalablement lavés et les mettre dans les plateaux de la chaine CLHP.

Lors de la programmation de l'appareil nous avons utilisé :

- **Colonne C₁₈ :** 15 cm x 4,6 mm remplie de particules de gel de silice
- **Débit :** 2,0 mL par minute
- **Volume d'injection :** 20 µL de solution
- **Détecteur :** Spectrophotomètre Ultraviolet
- **Longueur d'onde :** 270 nm

RESULTATS

IV. RESULTATS

Notre étude a porté sur 33 lots de médicament antituberculeux. Ils ont été prélevés de façon aléatoire et selon leur disponibilité lors de la collecte. Les tableaux et graphiques ci-dessous illustrent les résultats obtenus.

1- Répartition des échantillons par secteur de prélèvement

Le tableau ci-dessous indique la répartition suivante :

Tableau III : Répartition des échantillons par secteur de prélèvement, nombres de lots, pays fabricants et provenance :

Secteur de prélèvement	Nombre de lot	Pays fabricants	Pays de provenance	Pourcentage
PPM	33	INDE	BAMAKO	100 %

Les échantillons prélevés provenaient de la PPM avec 33 lots soit 100 %.

Ils étaient tous fabriqués en Inde et provenaient du district de Bamako.

2- Répartition des échantillons par molécule (Principe actif)

Le tableau IV illustre la répartition des échantillons en fonction du principe actif

Tableau IV : Répartition des échantillons en fonction du principe actif

DESIGNATION DES PRINCIPES ACTIFS	NOMBRE DE LOT	POURCENTAGE
RMP-INH-PZA-EMB	14	42,42%
RMP-INH	7	21,21%
INH	5	15,15%
EMB	3	9,09%
PZA	2	6,06%
RMP-INH-PZA	2	6,06%
TOTAL	33	100%

Les associations RMP-INH-PZA-EMB étaient majoritairement représentées dans l'échantillonnage avec 14 lots soit 42,42%.

Tous les échantillons étaient fabriqués en Inde.

3- Résultats de l'examen visuel et contrôle des caractères organoleptiques :

L'examen visuel des échantillons sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau V : Résultats de l'examen visuel des échantillons

Échantillons	Nombres de lots	Couleurs et aspect	Forme des comprimés	Les informations sur l'emballage primaire et secondaire			
RMP-INH-PZA-EMB	14	Marrons, blancs et jaunes, Plaquette en aluminium imprimée	oblong sécable, pelliculé	Nom du produit	oui		
				Nom et adresse du fabricant	oui		
				Date de fabrication et d'expiration	oui		
				Présence d'informations lisibles	oui		
Présentation de l'emballage primaire							
RMP-INH-PZA	2		Marrons, blancs et jaunes, Plaquette en aluminium imprimée	rond, sécable, pelliculé	L'emballage primaire intègre	oui	
					L'emballage primaire sans traces d'humidité	oui	
					L'emballage primaire scellé convenablement	oui	
RMP-INH	7			Marrons, blancs et jaunes, Plaquette en aluminium imprimée	rond, sécable, pelliculé	L'emballage primaire isolait le médicament de l'extérieur	oui
						L'emballage primaire hermétique	oui
INH	5	Marrons, blancs et jaunes, Plaquette en aluminium imprimée			oblong sécable, pelliculé	L'emballage primaire hermétique	oui
PZA	2				oblong		
EMB	3		sécable				

L'examen visuel n'a montré aucun cas de non-conformité.

4- Résultats de l'uniformité de masse

Les résultats relatifs au test d'uniformité de masse des lots d'échantillons sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Résultats de l'uniformité de masse des lots d'échantillon d'antituberculeux

Code de l'échantillon	Poids moyens (g)	Spécifications
21-01	1,252685	Inférieures ou égales aux spécifications
21-02	1,25215	
21-03	1,24857	
21-04	1,24680	
21-05	1,24179	
21-06	1,24227	
21-07	0,365654	
21-08	0,36570	
21-09	1,24395	
21-10	1,244495	
22-01	0,39238	
22-02	0,91939	
22-03	1,11203	
22-04	1,12606	
22-05	1,24179	
22-06	0,386405	
22-07	0,3887	
22-08	0,22171	
22-09	0,22171	
22-10	0,915945	
22-11	0,38426	
22-12	0,92852	
22-13	0,929375	
22-14	0,22040	
22-15	0,3212	
22-16	1,1221	
22-17	1,106106	
22-18	1,1046	
22-19	0,380166	
22-20	0,376063	
22-21	0,90137	
22-22	0,45331	
22-23	0,888g	

Tous les échantillons analysés avaient un poids moyen conforme conformément aux spécifications.

5-Résultats du test de désagrégation :

Les résultats relatifs au test de désagrégation sont indiqués dans les figures 26 et 27 :

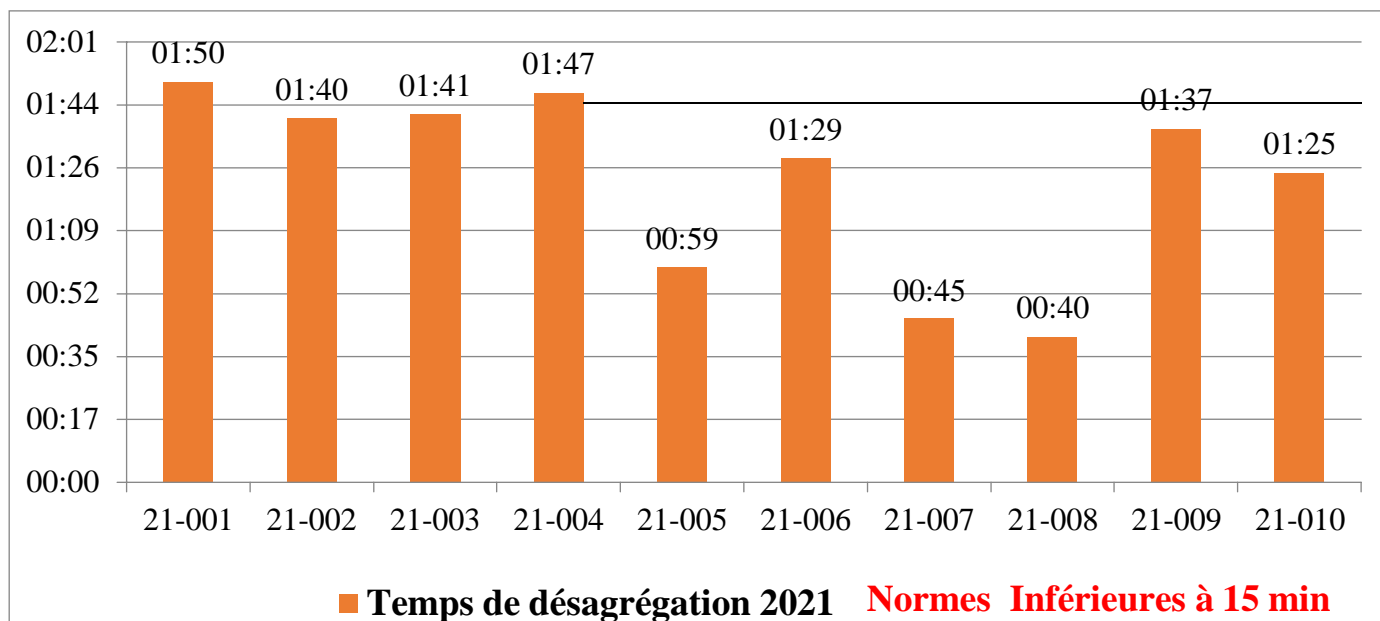


Figure 25: Temps de désagrégation des échantillons analysés en 2021

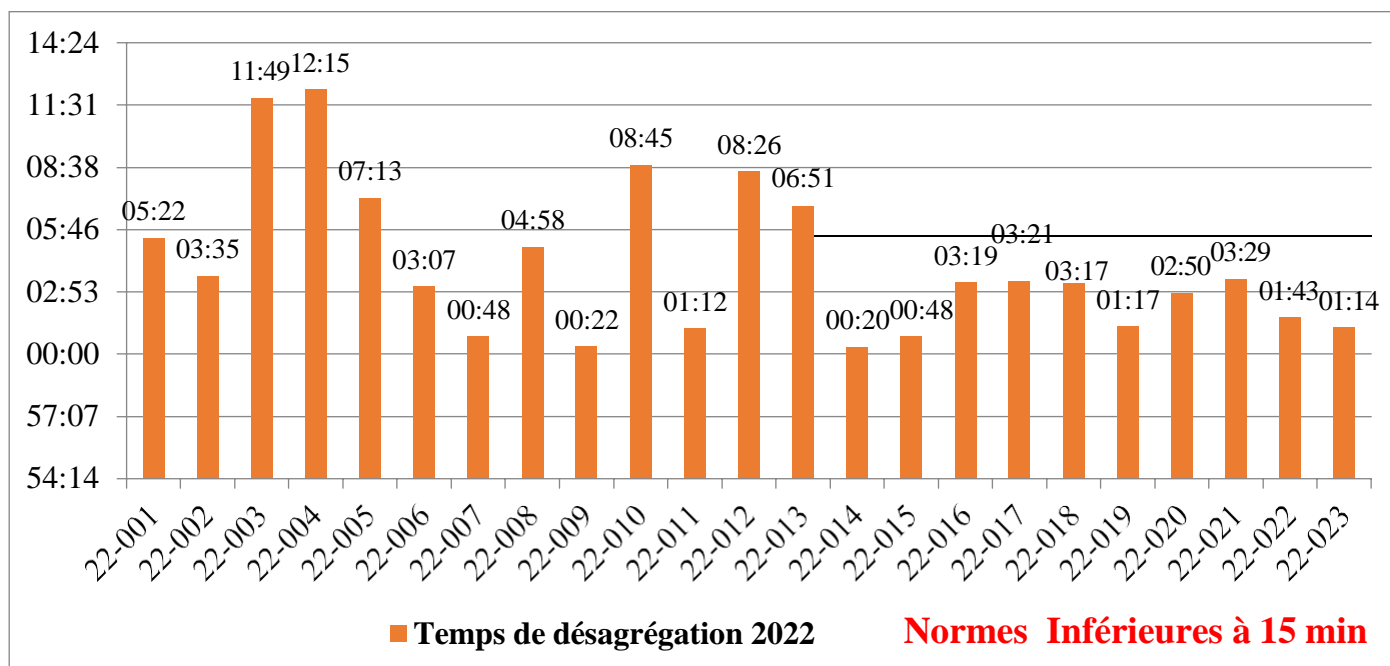


Figure 26 : Temps de désagrégation des échantillons analysés en 2022

Tous les lots d'échantillons analysés avaient un temps de désagrégation conforme selon la norme de la pharmacopée internationale édition 2020. Ils avaient tous un temps de désagrégation inférieur à 15 min.

6-Résultats de la Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

➤ Les figures 28 et 29 permettent d'observer les tâches après révélation

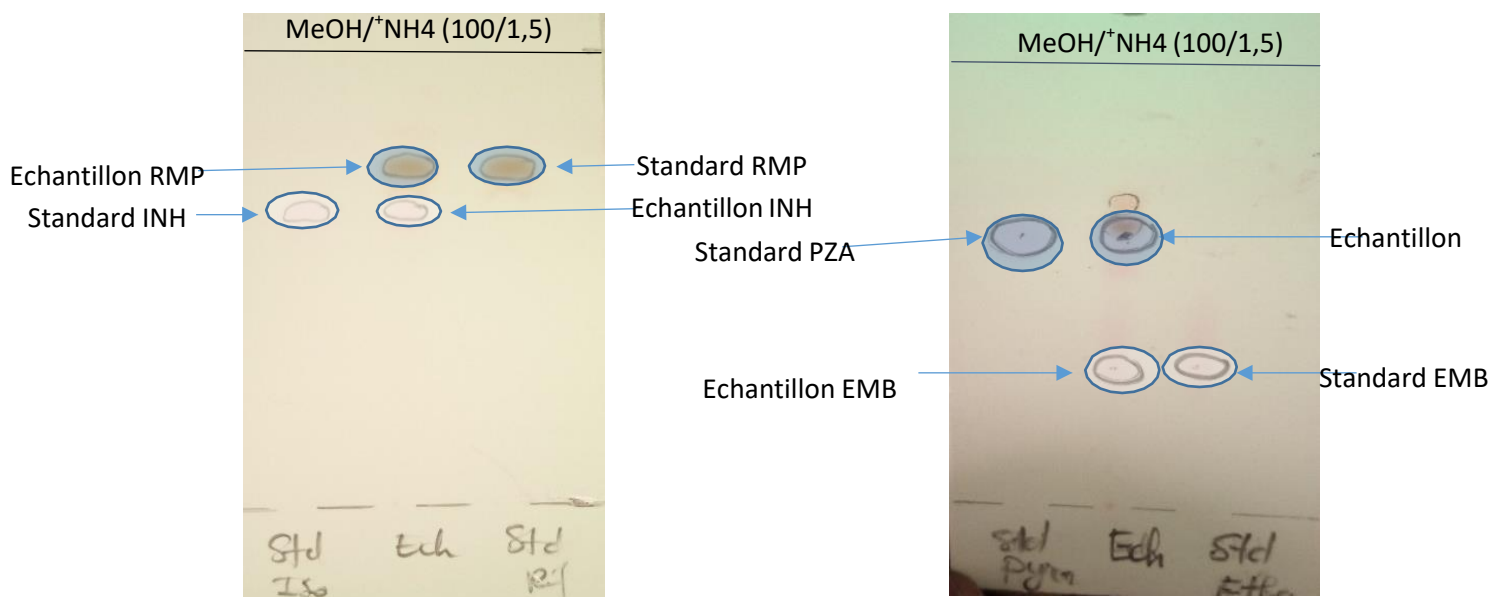


Figure 27 : Plaque CCM de RMP-INH 21-01

Figure 28 : Plaque CCM de PZA-EMB 21-01

(Révélée sous UV à 254 nm)

(Révélée sous la vapeur diiode)

Les échantillons analysés avaient les tâches conformes aux standards et selon la norme édictée par la pharmacopée internationale, elles correspondaient en position et intensité avec celles obtenues par les standards après migration.

La figure 30 permet d'observer les tâches après révélation :

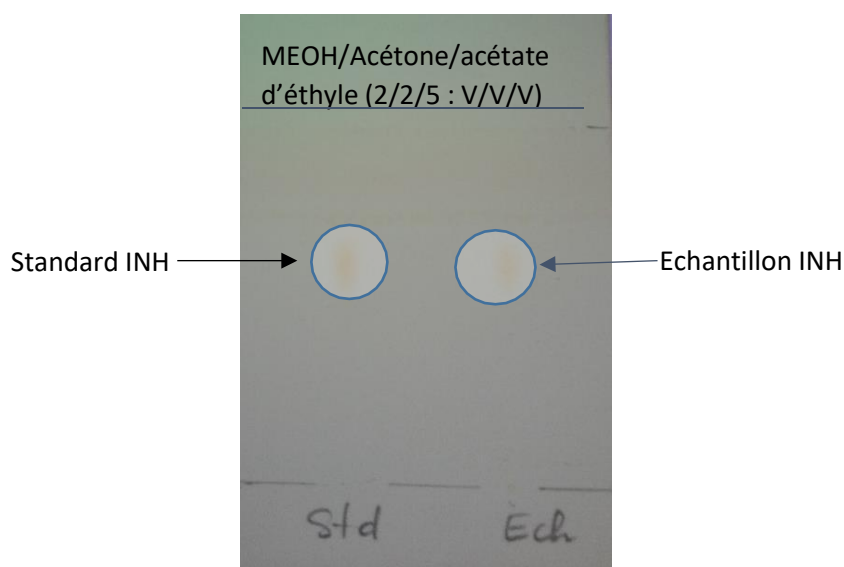


Figure 29 : Plaque CCM d'INH

(Révélée sous UV à 254 nm)

L'observation de la figure 30 montre que la tâche obtenue avec le standard correspond en position et intensité avec celle obtenue par l'échantillon. Les échantillons analysés étaient donc conformes selon la norme de la pharmacopée internationale.

La figure 31 permet d'observer les tâches après révélation

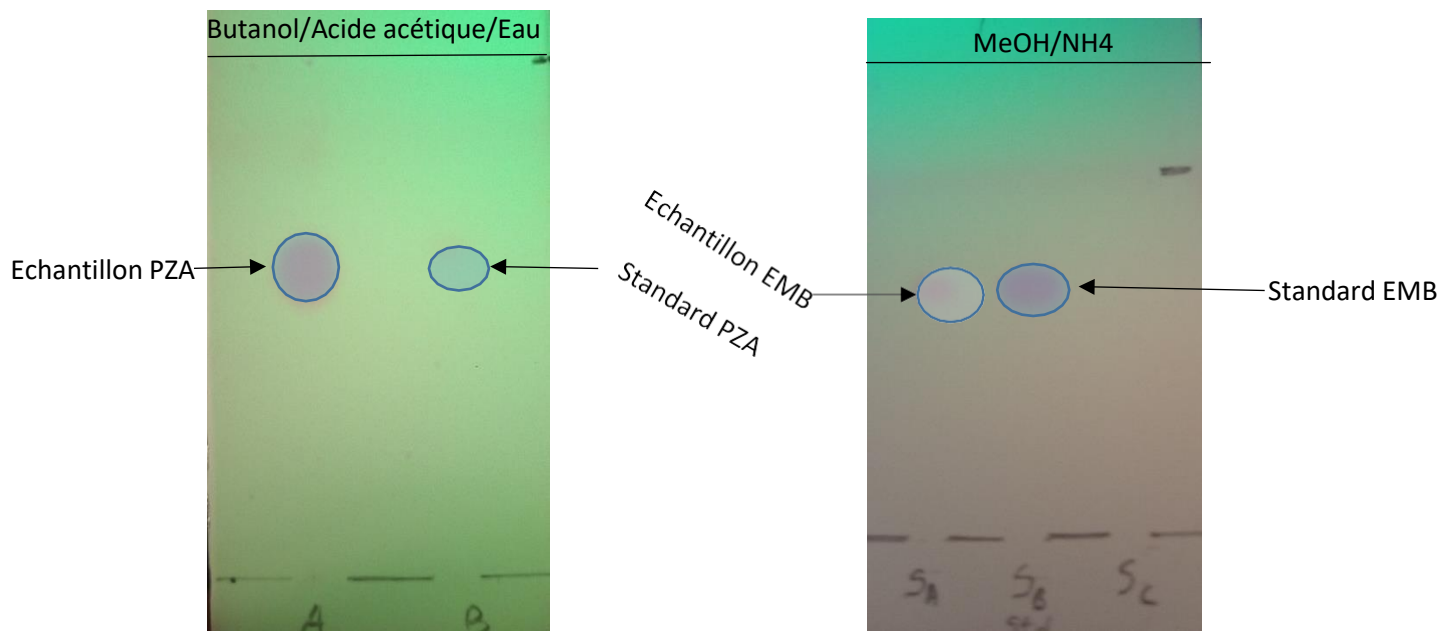


Figure 30 : Plaque CCM de PZA

(Révélée sous UV à 254 nm)

Figure 31 : Plaque CCM d'EMB

(Révélée sous la vapeur diiode)

L'observation des figures 31 et 32 des plaques CCM montre que :

- La tâche obtenue avec la solution A (échantillon) de pyrazinamide est plus intense que celle obtenue avec la solution B (diluée de la solution A) implique donc la conformité des échantillons selon la pharmacopée internationale édition 2020.
- la tâche obtenue avec la solution B (solution du standard) est plus intense que celle obtenue avec la solution A (échantillon).

Les tableaux ci-dessous indiquent les valeurs des Rf et %Rf :

Tableau VII : Résultat du test de CCM : Cas des lots INH-RMP-PZA-EMB

Code de L'Ech	Rf standards				Rf échantillons				% de Rf			
	INH	RMP	PZA	EMB	INH	RMP	PZA	EMB	INH	RMP	PZA	EMB
21-01	0,59	0,13	0,75	0,13	0,60	0,13	0,75	0,13	1,3%	0%	0%	0%
21-02	0,90	0,76	0,68	0,11	0,89	0,76	0,48	0,83	0,8%	0%	1,6%	2,7%
21-03	0,76	0,90	0,8	0,16	0,76	0,90	0,8	0,16	0%	0%	0%	0%
22 01	0,71	0,8	0,79	0,48	0,68	0,77	0,78	0,4	3,23%	2,75%	1,13%	4,3%
22-02	0,71	0,76	0,82	0,12	0,71	0,76	0,82	0,12	0%	0%	0%	0%
22-03	0,66	0,73	0,79	0,09	0,67	0,73	0,79	0,09	1,9%	0%	0%	0%
22-04	0,72	0,85	0,81	0,37	0,73	0,86	0,82	0,37	1,3%	1,2%	1,2%	0%
22-05	0,87	0,703	0,36	0,825	0,861	0,722	0,36	0,816	1,03%	2,7%	0%	1,1%
22-06	0,693	0,79	0,711	0,32	0,701	0,77	0,711	0,32	1,14%	2,5%	0%	0%
22-07	0,71	0,8	0,70	0,3	0,71	0,8	0,70	0,3	0%	0%	0%	0%
22-08	0,66	0,68	0,55	0,3	0,66	0,68	0,53	0,29	0%	0%	3,6%	3,3%
22-09	0,72	0,8	0,79	0,4	0,73	0,77	0,79	0,42	1,3%	2,75%	0%	4,7%
22-10	0,53	0,63	0,70	0,4	0,53	0,63	0,70	0,4	0%	0%	0%	0%
22-11	0,84	0,89	0,72	0,4	0,84	0,86	0,70	0,39	0%	3,37%	2,77%	2,5%

Tous les échantillons étaient conformes à la spécification requise (% Rf ≤ 5%).

Tableau VIII : Résultat du test de CCM : Cas des lots INH-RMP-PZA

Code de l'Ech	Rf standards			Rf échantillons			% de Rf		
	INH	RMP	PZA	INH	RMP	PZA	INH	RMP	PZA
22-12	0,71	0,79	0,42	0,71	0,77	0,4	0%	2,5%	4,7%
22-13	0,33	0,66	0,45	0,33	0,66	0,4	0%	0%	4,4%

Tous les échantillons étaient conformes à la spécification requise (% Rf < 5%).

Tableau IX : Résultat du test de CCM : Cas des lots INH-RMP

Code de L'Ech	Rf standards		Rf échantillons		% de Rf	
	INH	RMP	INH	RMP	INH	RMP
21-04	0,54	0,48	0,54	0,48	0%	0%
22-14	0,71	0,15	0,71	0,15	0%	0%
22-15	0,55	0,72	0,55	0,72	0%	0%
22-16	0,66	0,70	0,66	0,70	0%	0%
22-17	0,33	0,80	0,33	0,80	0%	0%
22-18	0,72	0,77	0,73	0,77	1.3%	0%
22-19	0,60	0,73	0,60	0,73	0%	0%

Tous les échantillons étaient conformes spécification requise (% Rf ≤ 5%).

Tableau X : Résultat du test de CCM : Cas des lots INH

Code de l'Ech	Rf standards	Rf échantillons	% de Rf
	INH	INH	INH
21-05	0,70	0,69	1,42%
21-06	0,65	0,64	1,5%
22-20	0,73	0,73	0%
22-21	0,73	0,72	1,36%
22-22	0,71	0,71	0%

Tous les échantillons étaient conformes spécification requise (% Rf ≤ 5%).

Tableau XI : Résultat du test de CCM : Cas des lots PZA

Code de l'Ech	Rf standards	Rf échantillons	% de Rf
	PZA	PZA	PZA
21-07	0,72	0,72	0%
21-08	0,79	0,78	1,26%

Tous les échantillons étaient conformes conformément à la norme adoptée (% Rf \leq 5%).

Tableau XII : Résultat du test de CCM : Cas des lots EMB

Code de L'Ech	Rf standards	Rf échantillons	% de Rf
	EMB	EMB	EMB
21-09	0,33	0,32	3%
21-10	0,40	0,38	5%
22-23	0,43	0,42	2,3%

Tous les échantillons étaient conformes conformément à la norme (% Rf \leq 5%).

7- Spectroscopie UV-Visible :

La figure 33 montre le résultat d'analyse de la spectrophotométrie UV-Visible du pyrazinamide.

Cas du lot N°21- 07 :

Norme édictée par la pharmacopée internationale, édition 2020

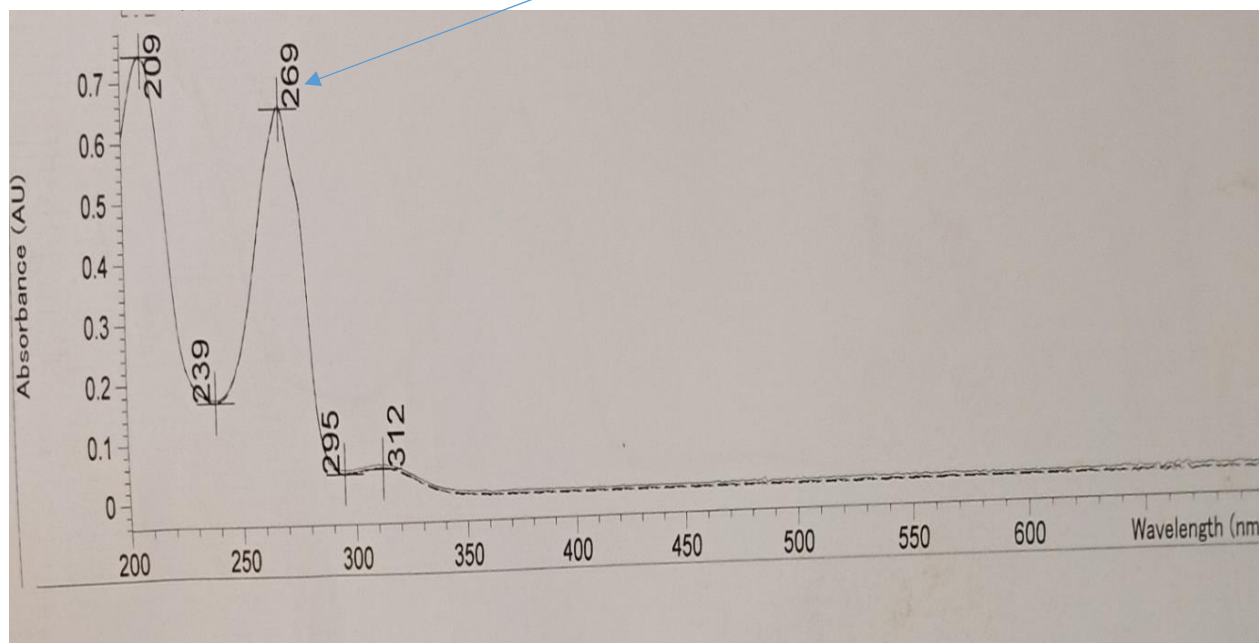


Figure 32: Spectre d'identification de pyrazinamide par spectrophotométrie UV-Visible

Les lots de pyrazinamide analysés étaient conformes, respectant la norme décrite par la pharmacopée internationale avec la sortie des pics à un maximum à environ 269 nm fourchette 259,40-273,20).

Tableau XIII : Valeurs de la densité optique en fonction longueur d'onde des pics

Nom	Longueur d'onde (nm)	Absorbance (pas d'unité)
PZA 21-07	269	0,6598
PZA 21-07	269	0,6554
PZA 21-07	269	0,6542
PZA 21-07	269	0,6538

La teneur des échantillons était comprise entre 90 à 110% conformément dit par la pharmacopée internationale avec une densité optique de référence égale à 65,0 (650).

8-Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)

❖ Temps de rétention :

Le temps de rétention des échantillons et des standards sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau XIV : Temps de Rétention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'INH-RMP-PZA-EMB

Code de L'Ech	Standards				Echantillons			
	INH	RMP	PZA	EMB	INH	RMP	PZA	EMB
22-01	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,40	8,19
22-02	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,40	8,19
22-03	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,40	8,19
22-04	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,40	8,19
22-05	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,40	8,19
22-06	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,39	8,19
22-07	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,39	8,19
22-08	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,39	8,19
22-09	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,39	8,19
22-10	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,40	8,19
22-11	1,92	17,12	2,40	8,2	1,92	17,11	2,40	8,18
21-01	1,721	10,26	2,159	7,045	1,717	10,238	2,157	7,038
21-02	1,721	10,26	2,159	7,045	1,718	10,237	2,157	7,039
21-03	1,721	10,26	2,159	7,045	1,718	10,237	2,157	7,039

Les temps de rétention des échantillons étaient conformes par rapport aux standards selon la norme édictée par la pharmacopée internationale, édition 2020.

Tableau XV : Temps de Rétention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'INH-RMP-PZA

Désignation du Principe actif	Std	Ech N°22-012	Ech N°22-013
INH	1,92	1,92	1,91
RMP	17,12	17,11	17,12
PZA	2,40	2,41	2,39

Tous les échantillons étaient conformes conformément à la norme adoptée (% $R_f \leq 5\%$).

Tableau XVI : Temps de Rétention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'INH-RMP

Principe actif	Std	Ech N° 21-04	Ech N° 22-014	Ech N° 22-015	Ech N° 22-016	Ech N° 22-017	Ech N° 22-018	Ech N° 22-019
INH	1,92	1,91	1,91	1,92	1,92	1,92	1,92	1,92
RMP	17,12	17,12	17,12	17,12	17,12	17,12	17,12	17,12

Tous les échantillons étaient conformes conformément à la norme adoptée (% $R_f \leq 5\%$).

Tableau XVII : Temps de Rétention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'INH

Principe actif	Std	Ech N°21-05	Ech N°21-06	Ech N°22-020	Ech N°22-021	Ech N°22-022
INH	1,729	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71

Tous les échantillons étaient conformes conformément à la norme adoptée (% $R_f \leq 5\%$).

Tableau XVIII : Temps de Rétention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas de PZA

Principe actif	Std	Ech N°21-07	Ech N°21-08
PZA	2,146	2,149	2,149

Tous les échantillons étaient conformes conformément à la norme de la pharmacopée internationale édition 2020 (% $R_f \leq 5\%$).

Tableau XIX : Temps de Rétention des standards et des échantillons (en minutes) : Cas d'EMB

Principe actif	Std	Ech N°21-09	Ech N°21-010	Ech N°22-023
EMB	8,2	8,19	8,19	8,19

Tous les échantillons étaient conformes conformément à la norme adoptée (% Rf \leq 5%).

Les figures ci-dessous indiquent les chromatogrammes des différents antituberculeux :

Cas de l'Ech N° 21-01 : Commune à tous les lots contenant le principe actif INH, PZA, EMB

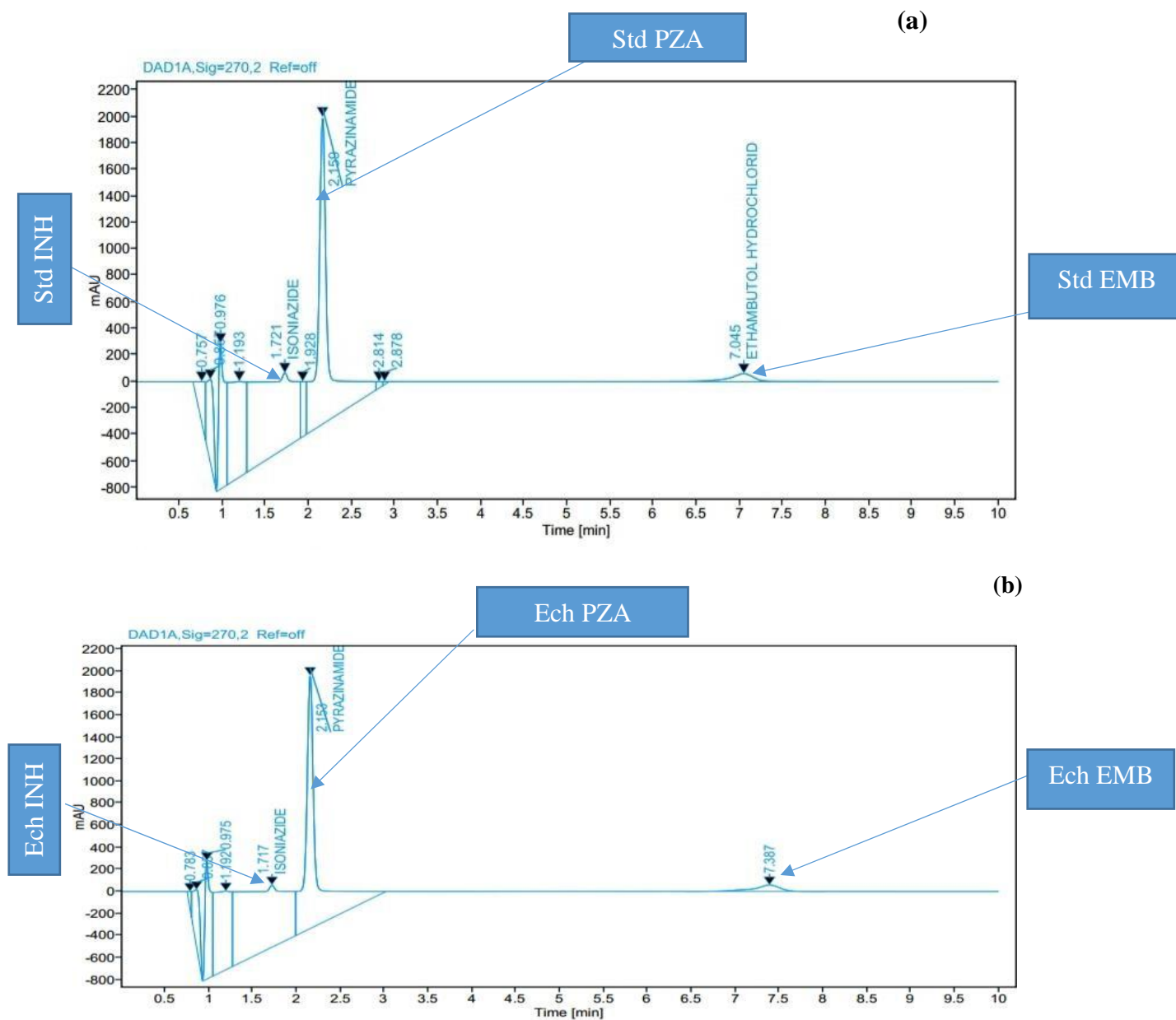


Figure 33: Chromatogrammes du standard (a) et d'un échantillon (b) du code N° 21-01

Les chromatogrammes montraient que les pics des échantillons sont apparus à des temps sensiblement égaux conformément aux standards respectivement 1,717 ; 2,159 et 7,045 min pour INH ; PZA et EMB.

Cas de l'Ech N°21-01 : Commune à tous les lots contenant le principe actif RMP

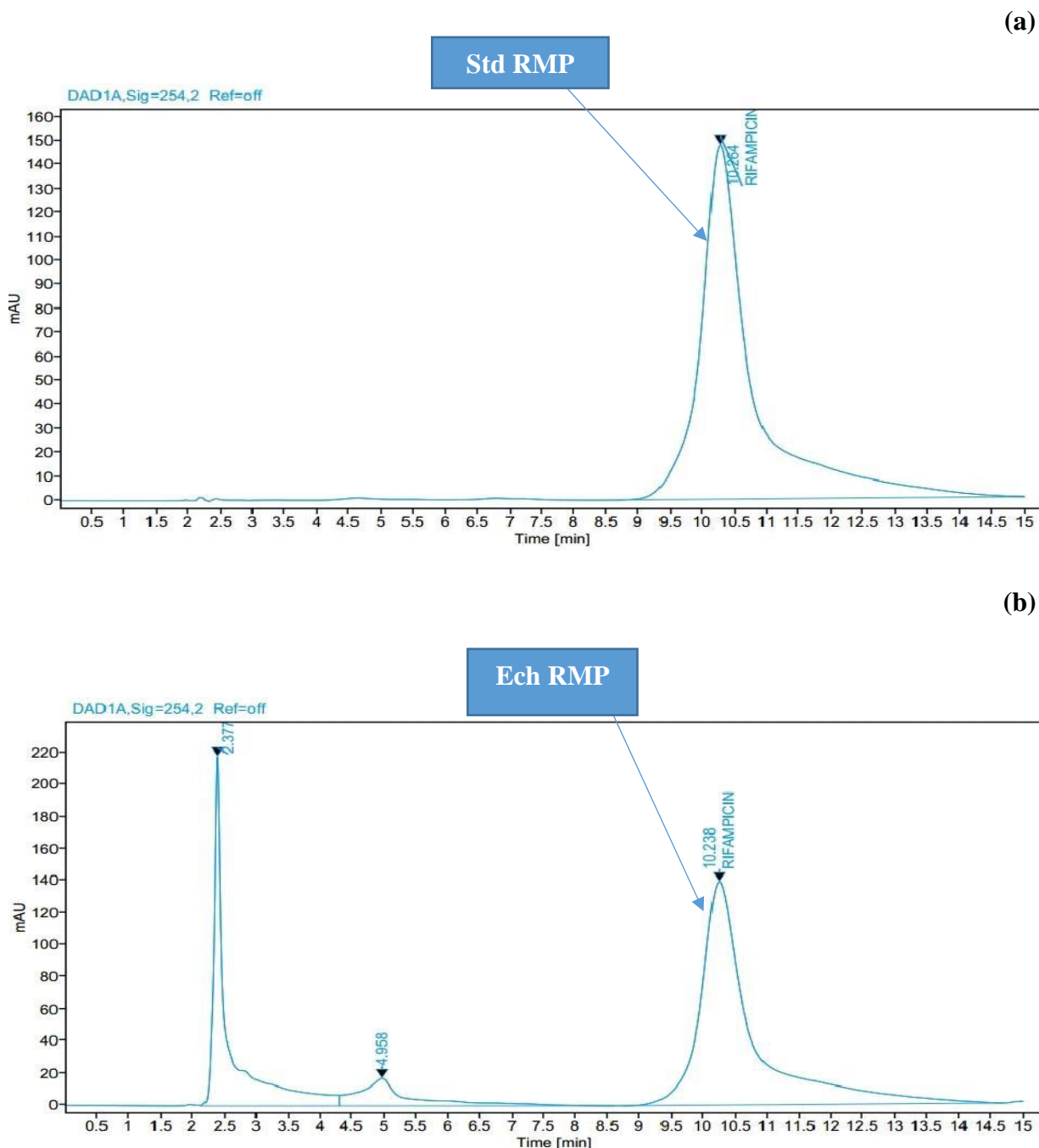


Figure 34: Chromatogrammes du standard (a) de RMP et d'un échantillon (b) du code N°21-01

Les chromatogrammes montraient que le pic de l'échantillon est apparu à un temps sensiblement égal conformément au standard de temps 10,26 min.

Cas de l'Ech N° 21-07 : Commune à tous les lots contenant le principe actif PZA

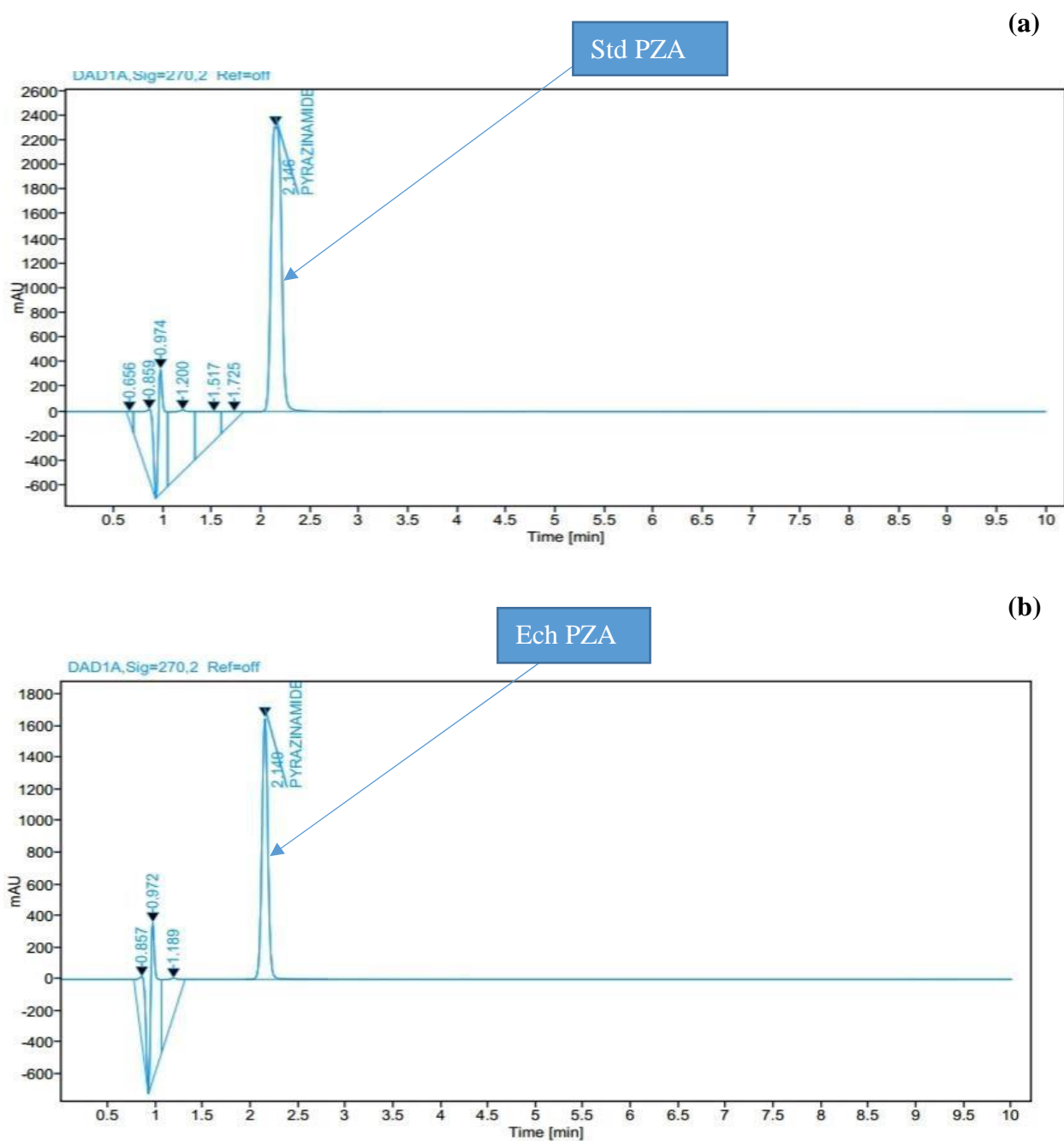


Figure 35: Chromatogrammes du standard (a) et d'un échantillon (b) du code N° 21-07

Les chromatogrammes montraient que le pic de l'échantillon est apparu à un temps sensiblement égal conformément au standard de temps 2,146 min.

Cas de l'Ech N°21-05 : commune à tous les lots contenant le principe actif INH

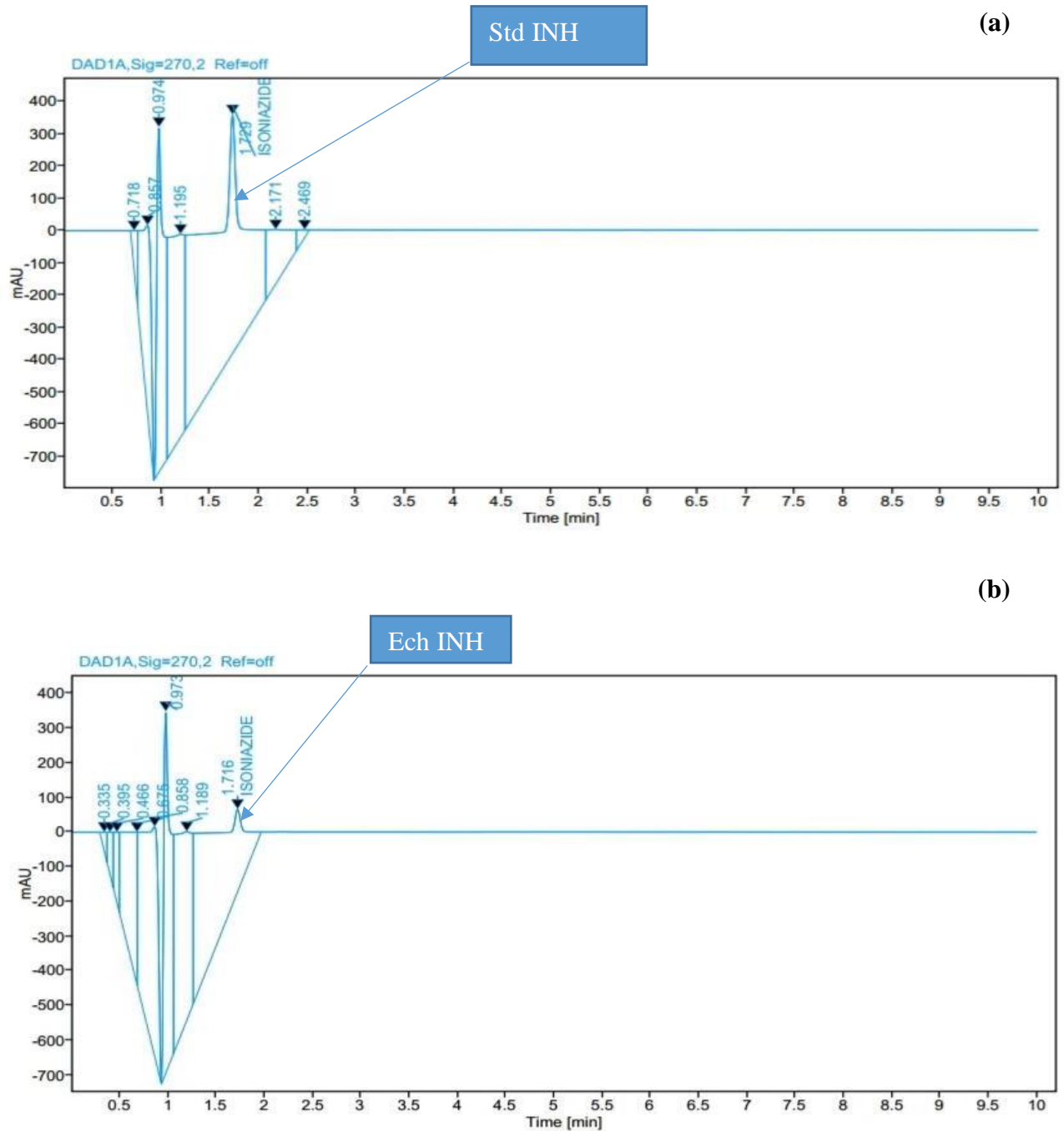


Figure 36: Chromatogrammes du standard(a) et d'un échantillon(b) du code N°21-07

Les chromatogrammes montraient que le pic de l'échantillon est apparu à un temps sensiblement égal conformément au standard de temps 1,729 min.

❖ **Teneur des principes actifs**

Selon la monographie de la pharmacopée internationale, les médicaments ne contiennent pas moins de 90% et pas plus de 110% des quantités d'isoniazide, de la rifampicine, du pyrazinamide et d'éthambutol indiquées sur l'étiquette.

Les tableaux suivants illustrent la teneur des échantillons par principe actif

Tableau XX: Lots contenant INH-RMP-PZA-EMB

Code d'Ech	Teneur en %			
	INH	RMP	PZA	EMB
21-01	100,1%	98%	100,2%	98,9%
21-02	97,1%	99%	99,9%	99,5%
21-03	95,1%	99%	99,6%	98,3%
22-01	98,6%	101%	98,8%	99,4%
22-02	98,28%	97,5%	99,2%	99,5%
22-03	97,2%	99%	100,8%	100,4%
22-04	92,2%	99%	98,3%	97,8%
22-05	92,8%	99%	99,2%	97,8%
22-06	98,5%	98%	101%	97,7%
22-07	98,7%	99%	100,2%	97,7%
22-08	98,5%	99%	100,1%	97,5%
22-09	98,5%	99%	99,1%	97,5%
22-10	95,7%	97,5%	99,6%	97,7%
22-11	98,6%	99%	99,1%	97,5%

La teneur des échantillons était tous conformes conformément à la norme édictée par la pharmacopée internationale (teneur comprise entre 90 à 110%).

Tableau XXI : Lots contenant INH-RMP-PZA

Code d'Ech	Teneur en %		
	INH	RMP	PZA
22-12	98,9%	99,9%	98,7%
22-13	98,7%	102%	99,7%

La teneur des échantillons était tous conformes conformément à la norme édictée par la pharmacopée internationale (teneur comprise entre 90 à 110%).

Tableau XXII : Lots contenant INH-RMP

Code d'Ech	Teneur en %	
	INH	RMP
21-14	98,8%	101,7%
22-14	98,9%	99,7%
22-15	98,8%	99,8%
22-16	98,8%	101%
22-17	105,1%	99,9%
22-18	100,7%	99,9%
22-19	98,9%	99,5%

La teneur des échantillons était tous conformes conformément à la norme édictée par la pharmacopée internationale (teneur comprise entre 90 à 110%).

Tableau XXIII : Lots contenant INH

Code d'Ech	Teneur en %
	INH
21-05	98,7%
21-06	98,1%
22-20	98,2%
22-21	99,4%
22-22	99,5%

La teneur des échantillons était toute conforme conformément à la norme édictée par la pharmacopée internationale (teneur comprise entre 90 à 110%).

Tableau XXIV : Lots contenant PZA

Code d'Ech	Teneur en %
	PZA
21-07	99,8%
21-08	106%

La teneur des échantillons était toute conforme conformément à la norme édictée par la pharmacopée internationale (teneur comprise entre 90 à 110%).

Tableau XXV: Lots contenant EMB

Code d'Ech	Teneur en %
	EMB
21-09	100%
21-10	99,9%
22-23	99,9%

La teneur des échantillons était toute conforme conformément à la norme édictée par la pharmacopée internationale (teneur comprise entre 90 à 110%).

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

V. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Notre étude a été réalisée au Laboratoire National de la Santé précisément dans le Service de Contrôle Qualité des Médicaments à la période d'août 2021 à juin 2022 portant sur l'analyse des paramètres physico-chimique des antituberculeux.

Norme de conformité :

Dans notre étude, un médicament est considéré conforme lorsqu'il répond aux normes décrites dans le manuel monographique ou guide concis de contrôle qualité des médicaments.

Nous avons réalisé les paramètres dans la pharmacopée internationale et appliqué des méthodes physico-chimiques avec les moyens nécessaires.

1. Secteur de prélèvement et principes actifs

❖ Secteur de prélèvement :

Les échantillons provenaient tous de la PPM avec un taux de 100%.

Ceci s'explique par le fait que le LNS est un laboratoire capable de rendre les résultats disponibles et fiables.

❖ Principes actifs

Nos résultats ont montré que parmi les échantillons analysés, les associations fixes d'antituberculeux prédominaient. En effet, l'association fixe RMP-INH-PZA-EMB était la mieux représentée avec 42,42 %, ensuite l'association fixe de la RMP-INH avec 21,21% des échantillons prélevés. La monothérapie constituée par l'INH avait un taux très élevé, avec 15,15% des échantillons.

Ces résultats sont similaires à celui de EL HADJI SENY en 2010 au Sénégal qui avait aussi l'association RMP-INH-PZA-EMB la mieux représentée avec 27% des échantillons prélevés sur 107 échantillons suivie de la monothérapie par l'INH avec 24%.

Les combinaisons fixes de molécules antituberculeuses sont les plus utilisées dans le traitement de la tuberculose par rapport aux autres. Cela se justifie par le souci d'éviter l'apparition de pharmaco résistance mais aussi la nécessité de promouvoir une bonne observance du traitement grâce à la réduction du nombre de comprimés par prise quotidienne.

2. Inspection physique et visuelle

Au cours de notre étude, tous les lots analysés étaient conformes à l'issue de l'inspection physique et visuelle :

- ❖ Les emballages primaires étaient convenablement scellés, hermétiques et exempts de toute trace d'humidité.

❖ Aucune anomalie d'emballage et d'étiquetage des échantillons.

Ce résultat répond aux spécifications décrites dans les pharmacopées et les dossiers de ses produits. Ce qui nous permet de dire que les laboratoires ont respecté les bonnes pratiques de fabrication (BPF). En effet, ce test d'inspection physique et visuelle permet de détecter les médicaments contrefaits ou méfaits.

Ces résultats sont similaires aux résultats d'EL HADJI SENY, en 2010 au Sénégal qui avait au total 107 échantillons (EL HADJI SENY M, 2010).

Contrairement aux résultats de Niané en 2008 au Sénégal qui avait eu 4% de non-conformité à l'inspection physique et visuelle (NIANE, 2008).

3. Uniformité de masse

D'après notre étude, les résultats ont montré que tous les échantillons analysés se situaient dans les normes de la conformité selon celles mentionnées sur chaque étiquette.

Nos résultats sont similaires à ceux de Sidibé, en 2011 à Bamako, qui n'avait obtenu aucun cas de non-conformité à ce test sur 810 échantillons analysés (OUSMANE, 2011).

4. Test de désagrégation

Au cours de notre travail, aucun lot d'échantillon soumis à notre analyse n'était inconforme au test de désagrégation. Ils ont tous réussi le test de désagrégation soit inférieur à 15 minutes. Nos résultats sont similaires à ceux de Sidibé en 2011 à Bamako, qui n'avait obtenu aucun cas de non-conformité à ce test sur 810 échantillons analysés (OUSMANE, 2011).

5. Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :

Au cours de notre étude, tous les lots analysés étaient conformes par rapport à la technique de la Chromatographie sur Couche Mince avec un % Rf < 5 % pour chaque lot.

Cela signifie que les échantillons contenaient qualitativement les principes actifs Rifampicine, Isoniazide, Pyrazinamide et Ethambutol. Contrairement au résultat d'EL HADJI SENY en 2010 au Sénégal qui avait obtenu 24% de non conformités sur 107 échantillons.

6. Spectrophotométrie UV-Visible :

Les lots soumis à notre analyse étaient tous conformes suite à la spectrophotométrie UV-Visible. Ils avaient tous une teneur comprise entre 90 à 110% conformément à la norme édictée par la pharmacopée internationale édition 2020 et les pics de pyrazinamide étaient apparus à un maximum à environ 269 nm.

7. Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) :

Les résultats ont démontré que tous les échantillons étaient conformes qualitativement et quantitativement au regard des résultats fournis par la technique de la chromatographie liquide haute performance :

- ❖ Les chromatogrammes montrent que les pics des standards et des échantillons sont apparus à des temps de rétention sensiblement égaux.
- ❖ Les pics des échantillons sont similaires à ceux du standard.

On déduit que les échantillons contenaient les principes actifs isoniazide, rifampicine, pyrazinamide et éthambutol (dosage qualitatif).

Les teneurs des échantillons sont tous comprises dans un intervalle de 90 à 110%. Ces teneurs respectent la norme décrite par notre référence qu'est la pharmacopée internationale. Ceci nous permet de déduire que tous les échantillons analysés ont réussi le test de dosage quantitatif.

CONCLUSION

VI. CONCLUSION

La prolifération de la contre bande, la non observance des bonnes pratiques de fabrication, les conditions de conservations inadéquates, la vente illicite et les nombreuses sources frauduleuses d'approvisionnement des médicaments posent, avec acuité, la problématique de la qualité des médicaments disponibles sur le marché des pays en développement.

Notre étude avait comme objectif d'analyser les paramètres physico-chimiques des antituberculeux pour prévenir la santé de la population au Laboratoire National de la Santé.

Au terme de ce travail, nous pouvons dire que :

- Pour l'examen visuel, l'uniformité de masse et le test de désagrégation, les lots d'échantillon n'ont montré aucun cas de non-conformité ;
- Les résultats de la CCM, de l'UV-Visible et de la CLHP aussi ont montré que tous les lots d'échantillon étaient conformes.
- Malgré quelques difficultés rencontrées sur le plan technique nous avons pu obtenir des résultats probants.

Au regard des résultats obtenus qui montraient un taux de conformité élevé, 100% des échantillons, ils satisfont à notre objectif qui prend en charge, l'analyse des paramètres physico-chimiques des antituberculeux dans la lutte contre la tuberculose.

RECOMMANDATIONS

VII. RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude, nous recommandons :

Au programme National de Lutte contre la Tuberculose (P.N.T)

- ✓ d'exiger qu'il soit mis sur le marché que des produits qui ont été soumis au contrôle ;
- ✓ de faciliter l'approvisionnement de toutes les régions du Mali en médicaments antituberculeux.

Au Laboratoire National de la Santé

- ✓ de s'approvisionner régulièrement en réactifs et en substances de référence ;
- ✓ de faire des prélèvements dans toutes les régions du Mali.

Aux grossistes

- ✓ de faire des commandes chez des firmes fiables;
- ✓ de faire contrôler leur produit avant la mise en circulation.

RÉFÉRENCES

VIII. RÉFÉRENCES

ABDOULAYE SAYON TRAORÉ. (2005) Mise au point des méthodes d'identification et de dosage des médicaments antirétroviraux utilisées au Mali. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

ABITEBOUL D, ANTOUN F, BESSA Z, BILLY C, DAUTZENBERG B, DECLUDT B. (2003) Prévention et prise en charge de la tuberculose en France. *Maladies Respiratoires*, Vol 20, p.7 chap. 3.

ADAMA CAMARA. (2013) Etude rétrospective du contrôle de qualité des antirétroviraux au Laboratoire National de la Santé de 2009 à 2012. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

AMINATA KONATÉ. (2011) Contribution au contrôle de qualité des médicaments au Laboratoire National de la Santé : Analyse rétrospective de 1997 à 2011. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

ANDERSON RJ, WILLIAM AI, HANNAN CM, GOONETILLEKE NP, MCSHANE H, BROOKES R. (2006). Immunity to *TB* depends critically on the generation of effective CD4⁺ T-cell responses. Early T-cell responses in tuberculosis immunity, P-143.

BARBEREAU S. La contrefaçon des médicaments : un phénomène en pleine expansion. *Med Trop.*2006 ; P 529-32

BENFENATKI N. (2009) La Tuberculose multirésistante. *Médecine Interne*, Vol 30, n°2, p.68-72.

BOSTANABAD SZ, BAHRMAND A, TITOV LP, TAGHIKHANI M. (2007) Identification of mutations in the rpo B encoding the RNA polymerase beta subunit in rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Iran. *Tuberk Toraks*, Vol 55, n°2 p.70-77.

BRIAND MARION. (2016) Tuberculose multi résistance : Stratégies thérapeutiques actuelles et place de la bédaquiline(Sirturo).Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Rennes.

BROSSIER F. (2011) Mécanisme d'action et de résistance de l'isoniazide, un antituberculeux de première ligne. *Anti-Infect*, Vol 13, n°4, p.217-227.

CAROLINE MADEC. (2018) Lutte contre la Tuberculose est avant tout une question de moyen. *Santé. LE FIGARO.fr.*

CHEICK A K TAPO. (2012) Etude de la consommation des antipaludiques dans deux communes du district de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

D Yee, C Valiquette, M Pelletier, I Parisien, I Rocher et Dick Menzies. (2003) Incidence of Serious Side Effects from First-Line Antituberculosis Drugs among Patients Treated for Active Tuberculosis. *American Journal of Respiratory and Critical care Médecine*, Vol 167, n°11, p-472-1477.

EL HADJI SENY MBOW. (2010) Contrôle de qualité des médicaments antituberculeux utilisés au Sénégal. Thèse de doctorat en pharmacie, Bibliothèque numérique Université Cheick Anta Diop.

FAURE S. (2009) Antituberculeux. *Actual Pharm.*, Vol 18, n°4, p.48-8.

GERARD HUCHON. (1994) Tuberculose, Bibliothèque des savoirs en partage : Paris ESTM.

Guide Médicaux MSF. (2021).

Guide Médicaux MSF. (2022).

GIULIANO SARRA. Contrôle de qualité des médicaments : enjeu majeur pour la protection de la population. Solidarité thérapeutique et initiatives pour la santé (SOLTHIS MALI)

IBRAHIMA Haladou Magagi. (2019) Effets indésirables liés à la prise des antituberculeux. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

ISSOUF TRAORE. (2011) Evaluation de la prise en charge de la tuberculose dans le district de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

JASMER RM, NAHID P, HOPEWELL PC. (2002) Latent tuberculosis infection. N Engl J Med, Vol 23, n°347, p.1860-1866.

JEAN-BAPTISTE THIBER. (1987) Recherche bactériologie initiale dans un traitement ambulatoire correct. Le peuple A Vivien, Revue info DJ 1987.

KHANFRI SOUMIAN. (2016) Hépatotoxique de l'isoniazide : intérêt du suivi thérapeutique, Page 31.

KOUASSI GOH SYLVAIN. (2020) Etude rétrospective du contrôle de qualité des médicaments au Laboratoire National de la Santé de 2012à2019. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

MAUGEIN J, CHEMAUL A. (2010) La résistance aux antituberculeux. Revu Francophone, Vol 422, p.43-50.

MICHEAU A. (2005) Pneumologie. Internat-mémoire ENC : Vernazobres-Grego, Paris ; p.24-27.

MOUSSA SEKOU BAKAYOKO. (2012) Evaluation de la prise en charge de la tuberculose de janvier 2009 à mai 2010 dans le Centre de santé de référence de la commune VI du district de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

N. VEZIRIS, CAMBAU E, SOUGAKOFF W, ROBERT J, JARLIER V. (2005) Résistance aux antituberculeux. Arch Pédiatrie, Vol 12, n°2, p.102-9.

NIANE A. (2008) Contrôle de qualité des antituberculeux majeurs utilisés au Sénégal. Thèse de Pharmacie, Bibliothèque numérique Université Cheick Anta Diop.

OMS. (2006) Programme OMS de pré qualités des antituberculeux. Médecine tropicale. P549

OMS. (2015) Rapport sur la lutte contre la tuberculose dans le monde. Internet Publication global report.

OMS en Afrique. (2020) Tuberculose. Principaux faits.

OUSMANE ISSA SIDIBÉ. (2011) Contrôle de qualité des médicaments antipaludiques dans sept (07) régions administratives du Mali et le District de Bamako : opérationnalisations des kits minilabs. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako.

PERRIOT J, CHAMBONNET E, ESCHALIER A. (2011) Les effets indésirables des antituberculeux ; prise en charge. Maladies Respiratoires. Vol 28, n°4, p.542-55.

Pharmacopée européenne addendum, 2001.

Pharmacopée Internationale Edition. (2011). digicollections. General monographs.

Pharmacopée Internationale Edition. (2020). digicollections : monographs, dosage forms.

PIERRE AUBRY. (2007) La tuberculose à l'heure du sida Actualités. Médecine Tropicale.

PIERROT MWAMBA TSHILUMBA. (2020) Etude de la falsification de médicaments et mise au point de méthodes analytiques pour détecter les antibiotiques de qualité inférieure. Thèse en Sciences Pharmaceutiques option industrie et analyse des médicaments, Université de LUBUMBASHI.

Programme National de lutte contre le Sida et la Tuberculose. (2021) Rapport annuel. Cellule Sectorielle de Lutte contre le VIH/Sida, la Tuberculose et les hépatites virales. Page 19-20.

RICH M. (2009). Principes directeurs à l'intention des programmes antituberculeux pour la prise en charge des tuberculoses pharmacorésistances. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; chap. 19.

SAP KPAIBE, JSN YAO, FN BONY, EA AHONZO. (2020) Validation et application d'une méthode CLHP pour le dosage des combinaisons thérapeutiques d'antituberculeux à base de Rifampicine, d'Isoniazide et de Pyrazinamide en Côte d'Ivoire. Journal de Recherche Scientifique de l'Université de Lomé, Vol 22, n° 1-2.

Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique. (2019) Antituberculeux. Réponses d'experts (Bordeau) Page 8.

Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique. (2020) Antituberculeux. Réponses d'experts (Bordeau) Page 3.

SONGO SYLVIE. (2019) La bédaquiline un nouveau antituberculeux. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Picardie Jules Verne.

SONGUIGAMA COULIBALY. (2018) Synthèse et activité antituberculeuse de quelques dérivés de la 1,10-phenanthroline. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Felix Houphouët Boigny à Abidjan.

VEZIRIS N, AUBRY A, TRUFFOT PERNOT C. (2006) Argumentation sur la durée des traitements antituberculeux. Presse Médicale, p.35.

VIDAL 2013.

VIDAL 2022.

FICHE SIGNALÉTIQUE

Auteur : Mamadou Nouhoum OUATTARA

Titre : Analyse des paramètres physico-chimiques des antituberculeux au Laboratoire National de la Santé(LNS).

Thèse : Pharmacie

Année de soutenance : Année universitaire 2021-2022

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie

Résumé :

La tuberculose est une maladie infectieuse, contagieuse, endemo-épidémique, à transmission essentiellement interhumaine avec une propagation par voie aérienne due au complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MT) incluant *Mycobacterium hominis*, *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium africanum*, l'homme constituant le principal réservoir de bacilles tuberculeux. Elle fait partie des maladies les plus mortelles au monde due à des bacilles à multiplication ralenti et sporadiques et ou à l'inefficacité des antituberculeux utilisés.

L'objectif de notre étude était d'analyser les paramètres physico-chimiques des antituberculeux au Laboratoire Nationale de la Santé (LNS).

Il s'agissait d'une étude analytique de type prospective, qualitative et quantitative qui faisait le point des échantillons d'antituberculeux reçu pendant notre période d'étude : aout 2021-juillet 2022, réalisée au Service de Contrôle Qualité des Médicaments (SCQM) du Laboratoire National de la Santé (LNS) à Bamako.

Les différentes méthodes d'analyses physico-chimiques étaient les suivantes : l'inspection physique et visuel, le test d'uniformité de masse, le test de désagrégation, la Chromatographie sur Couche Mince, la spectrophotométrie UV-Visible et la Chromatographie Liquide Haute Performance.

L'échantillonnage a concerné 33 lots de médicaments antituberculeux dont tous étaient conformes à 100% selon la norme édictée par la pharmacopée internationale édition 2020. La non-conformité recherchée était soit l'absence de principe actif, soit les cas de surdosage ou de sous dosage des principes actifs.

Mots clés : Antituberculeux, LNS, Contrôle qualité, Conformité.

RECORD CARD

AUTEUR : Mamadou Nouhoum OUATTARA

Titre : **Analysis of the Physico-chemical parameters of anti-tuberculosis drugs at the National Health Laboratory (LNS)**

These : Pharmacy

Year of soutenance : academic year 2021-2022

City of soutenance : Bamako

Country of origin : Mali

Place of depot : Library of the faculty of Medecine, Pharmacy and Odonto-Stomatology

Resume :

Tuberculosis is infectious, contagious, endemo-epidemic disease, with essentially human-to-human transmission with airborne propagation due to the mycobacterium tuberculosis complex (MT) including Mycobacterium hominis, Mycobacterium bovis and Mycobacterium africanum, human constituting the main reservoir of tubercle bacilli.

It is one of the most deadly diseases in the world due to slow and sporadic multiplication bacilli and or the ineffectiveness of the anti-tuberculosis drugs used.

The objective of our study was **Analysis of the Physico-chemical parameters of anti-tuberculosis drugs at the National Health Laboratory (LNS)**.

It was an analytical study that took stock of the samples of anti-tuberculosis drugs received during our study period : August 2021-July 2022 carried out at the Medicines Quality Control Service(SCQM).

The various analytical methods used were physico-chemical methods such as mass uniformity tests and disaggregation. While TLC, UV-Visible spectrophotometry and HPLC were used for identification and dosage of active ingredients.

The sampling involved 33 batches of antituberculosis medication, all of which were 100% compliant with the standard set by the international pharmacopoeia.

The non-conformity sought was either the absence of active ingredient or cases of overdose or underdose of active ingredients.

Word cles : **Antituberculosis, LNS, Quality Control, Conformity.**

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité, et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure.