Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique.

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple -Un But - Une Foi

FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO – STOMATOLOGIE

Année universitaire 2010-2011 **Thèse N°...../p**

TITRE

Contrôle de qualité des médicaments antirétroviraux au Laboratoire National de la Santé du Mali.

Présentée et soutenue publiquement le 05/11/2011
devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)

par M. DIARRA Oumar dit Tièmoko

JURY

PRESIDENT : Professeur Elimane MARIKO

MEMBRE : Docteur Sékou BAH

MEMBRE : Docteur Moussa SANOGO

DIRECTEUR: Professeur Bénoit Yaranga KOUMARE

DEDICACE

Louange et Gloire à **ALLAH** (Soubhanahou Wa Ta'ala), Dieu omnipotent, le miséricordieux et à son prophète **MOHAMED** paix et salut soit sur lui (SAW), je dédie ce travail :

A mon père, Adama DIARRA et à ma mère Anchita TRAORE

En reconnaissance de tous les sacrifices que vous avez consentis pour nous. Vous m´avez appris le sens des responsabilités, de l'honneur, de la persévérance, de la cohésion, de l'entraide, de la modestie et de la croyance.

En somme, Vous demeurerez éternellement une référence pour moi.

Que Dieu tout puissant vous préserve pour nous, vous comble de santé et vous accorde une longue vie.

A ma famille, source de mes espérances.

A notre grande mère feue Mme SYLLA Mariam BERTHE

Que Dieu fasse en sorte que je n'oublie pas tout ce que vous aviez fait pour nous et qu'il vous accueille dans son paradis. Amen…

A ceux qui me sont les plus chers,
A ceux qui ont toujours été là pour moi,
A ceux qui ont cru en moi,
A ceux qui m´ont toujours encouragé
Je vous dédie cette thèse,

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux professeurs de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali pour la qualité de l'enseignement.
Sincères remerciements à tout le personnel du LNS en général et ce du service contrôle de qualité des médicaments en particulier pour m'avoir accueilli à bras ouvert. Sachez que ce modeste travail est le fruit de votre franche collaboration.
Je tiens aussi à témoigner ma gratitude aux familles Feux Souleymane djan TRAORE à Sikasso et Wally SYLLA au point G qui n'ont ménagé aucun effort pour la réussite de mes études secondaires et universitaires avec succès.
A ma fiancée Safiatou COULIBALY
Aux Internes du LNS :Hariratou H CISSE ; Aminata Konaté et Christelle WAFFO pour votre entière disponibilité, votre soutien et votre sympathie. Ce travail est le votre. Je vous en suis sincèrement reconnaissant.
Aux Docteurs : Aboubacar DIAMOUTENE ; Djéneba B FOFANA ; Michel Coulibaly et Bréma COULIBALY pour notre amitié exemplaire aucours et au delà des études universitaires
A mes camarades de la promotion Pr Amagana DOLO et Dr Rokia SANOGO pour ces moments inoubliables qu'on a eu à passer ensemble.
A tous les étudiants et Docteurs de la famille SYLLA au point G.

Hommage 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,

Chef du DER des sciences pharmaceutiques de la FMPOS,

Colonel-major des forces armées du Mali,

Chargé de mission et coordinateur de la cellule sectorielle de lutte contre le VIH/SIDA au Ministère de la Défense et des Anciens Combattants.

Honorable maître,

Nous sommes très honorés par la spontanéité avec la quelle vous avez accepté de participer à ce jury de thèse.

Votre simplicité, votre disponibilité, vos qualités humaines et professionnelles font de vous un enseignant exceptionnel.

Veuillez accepter cher maître l'expression de notre sincère admiration et de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et Juge :

- **Dr Moussa SANOGO**

Pharmacien, Spécialiste en Santé publique et Gestion des services de santé,

Doctorant PhD et Associé de recherche à la faculté de Médecine de l'Université de Montréal au Canada,

Consultant Expert Cedeao (Gestion des Services de Santé et Politiques pharmaceutiques),

Ancien chef du département Administration et du personnel (LNS).

Honorable maître,

C'est une chance pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury malgré vos multiples occupations. Nous avons été impressionnés par votre qualité scientifique, votre disponibilité et la simplicité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail.

Nous vous prions d'accepter le témoignage de nos sentiments les plus distingués et les plus respectueux.

A notre Maître et Juge :

- **Dr Sékou Bah**

Maître assistant de pharmacologie à la FMPOS,

Pharmacologue à la pharmacie Hospitalière du CHU du point G,

Titulaire d'un Master en Santé Communautaire Internationale.

Honorable maître,
Vos larges connaissances pharmaceutiques, votre honnêteté intellectuelle, votre grand abord facile ont satisfait notre admiration. Nous sommes très fiers et très honorés d'être comptés parmi vos disciples.

Cher maître, c'est un immense plaisir de vous manifester ici, solennellement notre profonde gratitude et notre sincère remerciement.

A notre maître et directeur de thèse :

- **Professeur Benoît Yaranga KOUMARE**

Maitre de conférences de chimie analytique à la FMPOS,
Directeur Général du Laboratoire National de la Santé
Spécialiste en Assurance qualité et Contrôle des médicaments,
Expert en Pharmacie galénique/ Analyse des médicaments vétérinaires auprès de l'UEMOA.

Honorable maître,
Permettez-nous de vous remercier cher maitre de la confiance que vous nous avez faite en nous confiant ce travail.

Nous avons toujours admiré vos qualités scientifiques et sociales

Vous avez cultivé en nous le sens du travail bien fait et la rigueur scientifique.

Recevez ici cher maitre toute notre reconnaissance et nos sincères remerciements.

Soyez rassurés de notre entière disponibilité.

Que le seigneur vous rende vos bienfaits et qu'il nous permette de vous rendre hommage en ayant la force, le courage et la chance de suivre vos pas.

SOMMAIRE

Liste des abréviations et sigles----------3
Liste des tableaux et figures (généralités) ----------4
Liste des tableaux (résultats) ----------5
INTRODUCTION----------7
OBJECTIFS----------8
1. Objectif général----------8
2. Objectifs spécifiques----------8
I. GENERALITES----------9
A. Le Virus de l'Immunodéficience Humaine----------9
1. Variantes génétiques et origines du VIH----------9
2. Epidémiologie de l'infection à VIH----------10
3. Structure du VIH----------12
4. Organisation génétique du Virus----------13
5. Physiopathologie du VIH----------14
B. Les Antirétroviraux----------17
1. Définition----------17
2. Pharmacologie des ARV----------17
3. Pharmacocinétique des ARV----------19
4. Classification----------22
C. Traitement Antirétroviral----------29
1. Objectif----------29
2. Principe----------30
D. Données essentielles sur le médicament et le contrôle de qualité-----31
1. Médicament----------31
2. Contrôle de qualité----------33
3. Méthode d'analyse----------35
4. Notion générale sur le Spectrophotomètre UV-visible et la Chromatographie Liquide Haute Performance----------39
II. METHODOLOGIE----------51
1. Type, lieu et période d'étude----------51
2. Echantillonnage----------51
3. Outils de collecte des donnés----------51
4. Critère d'inclusion----------51

5. Critère de non inclusion----------51
6. Saisie et Traitement des données----------51
7. Considérations éthiques----------51
8. Techniques d'analyse----------52
9. Matériels et Equipements----------54
10. Réactifs----------55
11. Normes de conformité----------55
III. RESULTATS----------56
1. Répartition des échantillons suivant la réception----------56
2. Répartition des échantillons suivant l'analyse----------60
3. Répartition des échantillons analysés suivant la conformité----------64
IV. COMMENTAIRES ET DISCUSSION----------66
V. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS----------69
VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES----------71
ANNEXES ----------75
RESUME ----------81

LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

% : Pourcentage

A : Absorbance

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ARNm: Acide Ribo Nucléique messager

ARV : Antirétroviraux

ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation

CD: Cluster of Differentiation

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

Cp : Comprimé

EDS-M : Enquête Démographique et de Sante du Mali

gp : glycoprotéine

GPHF: GLOBAL PHARMA HEALTH FUND E.V. (volume II en 2008)

HCNLS : Haut Conseil National de Lutte contre le Sida

INNTI : Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

INTI : Inhibiteur Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

IP : Inhibiteur de Protéase

LNS : Laboratoire National de la Santé

nm : nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P: protéine

PNB : Produit National Brut

PPM : Pharmacie Populaire du Mali

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise

Sol : Solution

T : Transmittance

T°c : Température

UV : Ultra Violet

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VIS : Virus de l'Immunodéficience Simienne

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

1- TABLEAUX

(GENERALITES)

Tableau I : Liste des ARV réceptionnés au LNS----------18
Tableau II : Paramètres pharmacocinétiques des ARV disponibles en 2010---------21
Tableau III : Uniformité de masse pour comprimé----------36
Tableau IV : Uniformité de masse pour capsule et poudre----------37
Tableau V : Temps maximal de désagrégation----------38
Tableau VI : Pouvoir d'élution de la phase mobile en HPLC----------50

(RESULTATS)

Tableau VII : Répartition des échantillons réceptionnés selon le laboratoire fabricant et le pays d'origine----------55
Tableau VIII : Répartition des échantillons réceptionnés selon les principes actifs---57
Tableau IX : Répartition des échantillons analysés selon la provenance----------59
Tableau X : Répartition des échantillons analysés selon les principes actifs-------61
Tableau XI : Répartition des échantillons analysés selon le type d'équipement de dosage au LNS----------62
Tableau XII : Répartition des échantillons analysés suivant la conformité----------63
Tableau XIII : Répartition des échantillons analysés selon le motif de non-conformité----------64

2- FIGURES

(GENERALITES)

Figure 1 **:** Arbre phylogénétique du VIH et du VIS----------10
Figure 2 : Structure du VIH----------12
Figure 3 : Représentation schématisée de l'organisation génétique du VIH----------13
Figure 4 : Schéma du cycle de réplication du VIH----------16
Figure 5 : Schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible monofaisceau-----40
Figure 6 : Principe de fonctionnement de l'HPLC----------44

LISTE DES GRAPHIQUES

GRAPHIQUES

Graphique 1 : Répartition des échantillons réceptionnés selon la provenance--------56
Graphique 2 : Répartition des échantillons réceptionnés selon la forme galénique--56
Graphique 3 : Répartition des échantillons réceptionnés selon le type d'équipement de dosage au LNS----------58
Graphique 4 : Répartition des échantillons analysés selon le laboratoire fabricant et pays d'origine----------59
Graphique 5 : Répartition des échantillons analysés selon la forme galénique-------60

Contrôle de qualité des médicaments antirétroviraux au Laboratoire National de la Santé du Mali

L'épidémie d'infection à VIH demeure un problème majeur de santé publique dans le monde. Il existe 33.4 millions de personnes qui vivent aujourd'hui avec cette infection [1].

Toutefois, l'Afrique subsaharienne compte 68% de la charge mondiale du VIH, on estime que les pertes économiques dues au VIH/SIDA représentent au moins 12% du PNB annuel [2]

La déclaration de la politique nationale de lutte contre le VIH/SIDA en juillet 2004 accorde enfin la gratuite des ARV augmentant ainsi le nombre de nouveaux malades recrutés. Le traitement antirétroviral est une trithérapie utilisant des molécules essentiellement virostatiques, et qui a pour objectif de restaurer l'immunité afin d'augmenter l'espérance de vie et d'améliorer la qualité de vie des malades. [3]

La trithérapie, basée sur l'utilisation d'associations d'antirétroviraux, a réduit de façon significative la mortalité et la morbidité dues au Sida dans les pays développés. Les efforts sont encore à fournir dans les pays africains, en particulier au Mali, pour favoriser l'accès aux traitements et permettre un suivi individuel des patients.

Pour un pays importateur de médicaments antirétroviraux comme le Mali, il convient de contrôler leur conformité par rapport aux prototypes décrits et approuvés par les autorités sanitaires lors de l'étude des dossiers d'autorisation de commercialisation.

La circulation de médicaments de mauvaise qualité, mal fabriqués ou contrefaits représente une menace permanente pour la santé publique. Or, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 25% des médicaments utilisés dans les pays en voie de développement sont de faux médicaments ou sont de qualité inférieure. Parmi les médicaments contrefaits découverts, de nombreux cas ont montré des effets nocifs pour la santé. Dans des cas extrêmes, on pourra observer l'aggravation des pathologies traitées [4]. Il est donc important de s'assurer un meilleur accès à des médicaments surs et efficaces contre le Sida.

Des pharmacopées (normes de qualité) et les Dossiers de Fabrication (Bonnes Pratiques de Fabrication) fournissent des descriptions détaillées des caractéristiques du médicament et des techniques analytiques à mettre en œuvre pour le contrôler.

Il est fondamentale dans tout système de soins de santé, d'assurer la garantie de la qualité des produits pharmaceutiques fabriqués localement ou importés car un produit de mauvaise qualité met en péril la vie des citoyens d'un pays donné.

Il ne peut y avoir de soins sans médicament, mais surtout il ne peut y avoir de soins de qualité sans médicament de qualité [5].

Pour renforcer l'accompagnement du LNS auprès des grands programmes de lutte contre la maladie, nous avons initié cette étude sur le contrôle de qualité des ARVs avec comme objectifs :

OBJECTIFS

1 Objectif général :

Contribuer à l'amélioration de la qualité des médicaments antirétroviraux dispensés au Mali.

2 Objectifs Spécifiques :

- Recenser les lieux de provenance des ARVs réceptionnés au LNS.
- Répertorier les laboratoires fabricants ces ARVs et leur pays d'origine.
- Identifier les problèmes liés au contrôle de la qualité des ARV au LNS.

I. GÉNÉRALITÉS

A. Le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH)

1- Variantes génétiques et origines du VIH [6]

Le VIH est un virus qui a une très importante variabilité génétique et présente ainsi une très grande diversité. Deux types ont été découverts :

- VIH-1, le plus présent dans le monde
- VIH-2, moins contagieux que VIH-1. Il sévit principalement en Afrique de l'Ouest. Il comprend le VIH-2A et le VIH-2B.

Au sein de chaque type existent plusieurs groupes qui, à leur tour, comportent des sous-types.

Depuis 1998, le VIH-1 est classé en trois groupes auquel s'ajoute un quatrième découvert en 2009 :

- groupe M (pour *major group*)
- groupe O (pour *outlier group*)
- groupe N (pour *non-M, non-O group*)
- groupe P

Les trois premiers groupes (les M, O et N) sont proches du VIS_{cpz} infectant le chimpanzé et correspondraient chacun à une transmission indépendante du chimpanzé à l'Homme. Le dernier groupe (le P) cependant est proche du VIS infectant le gorille (VIS_{gor}).

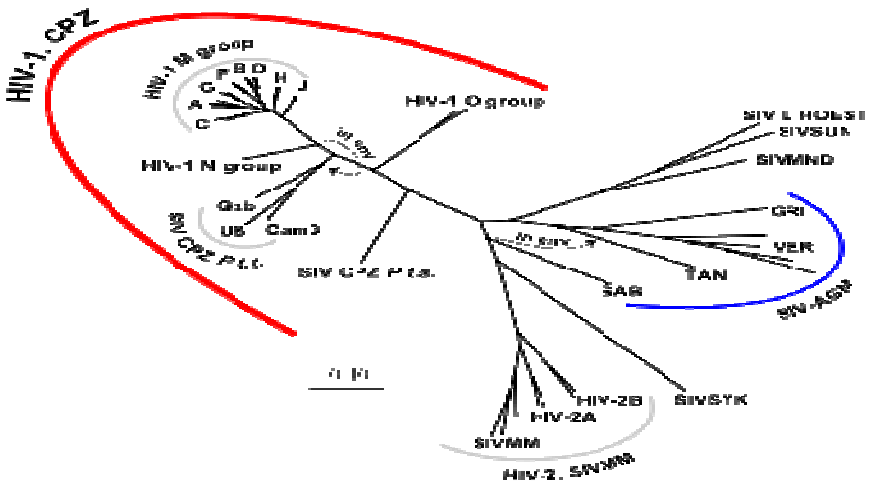


Figure 1 : Arbre phylogénétique du VIH et du VIS [6].

2- Epidémiologie de l'Infection à VIH [7]

2.1. Infection par les sous-types NON-B de VIH-1, VIH-1 groupe O et VIH-2.

Les virus de l'immunodéficience humaine sont des virus extrêmement divers et sont classés en deux types : VIH-1 et VIH-2.Il y a quatre groupes de VIH-1 : Le groupe M (Major), le groupe O (Outlier), le groupe N (Non M, Non O) et le groupe P, dernier identifier en 2009 [1].

Les VIH du groupe M sont responsables de la pandémie du SIDA. A ce jour, 9 sous-types ont été caractérisés (A, B, C, D, F, G, H, J, K) et plus de 43 formes recombinantes entre ces sous-types (CRF pour Circulating Recombinant Form) ont été identifiées, dont certains très récemment.

Parmi les sous-types du VIH-1 groupe M, le sous-type B est à l'origine de l'épidémie aux Etats-Unis et en Europe. Par opposition, les autres sous-types sont regroupés sous la dénomination de VIH-1 Non B. Ces VIH-1 sous-types non B sont à l'origine de plus de 90% de la pandémie, notamment sur le continent africain [1] ; ils sont de plus en plus fréquemment responsables de nouvelles infections en Europe [2], particulièrement les formes recombinantes.

La diversité des VIH peut poser des problèmes diagnostiques et thérapeutiques ; cela concerne en particulier pour les infections à VIH-2 et les infections à VIH-1 groupe O, du fait de la nécessite de recourir à des techniques moléculaires spécifiques pour la mesure de la charge virale et de leur résistance naturelle à certains antirétroviraux. Les infections par les groupes P et N de VIH-1 sont extrêmement rares et leur prise en charge se rapproche de celles des VIH-1 du groupe M.

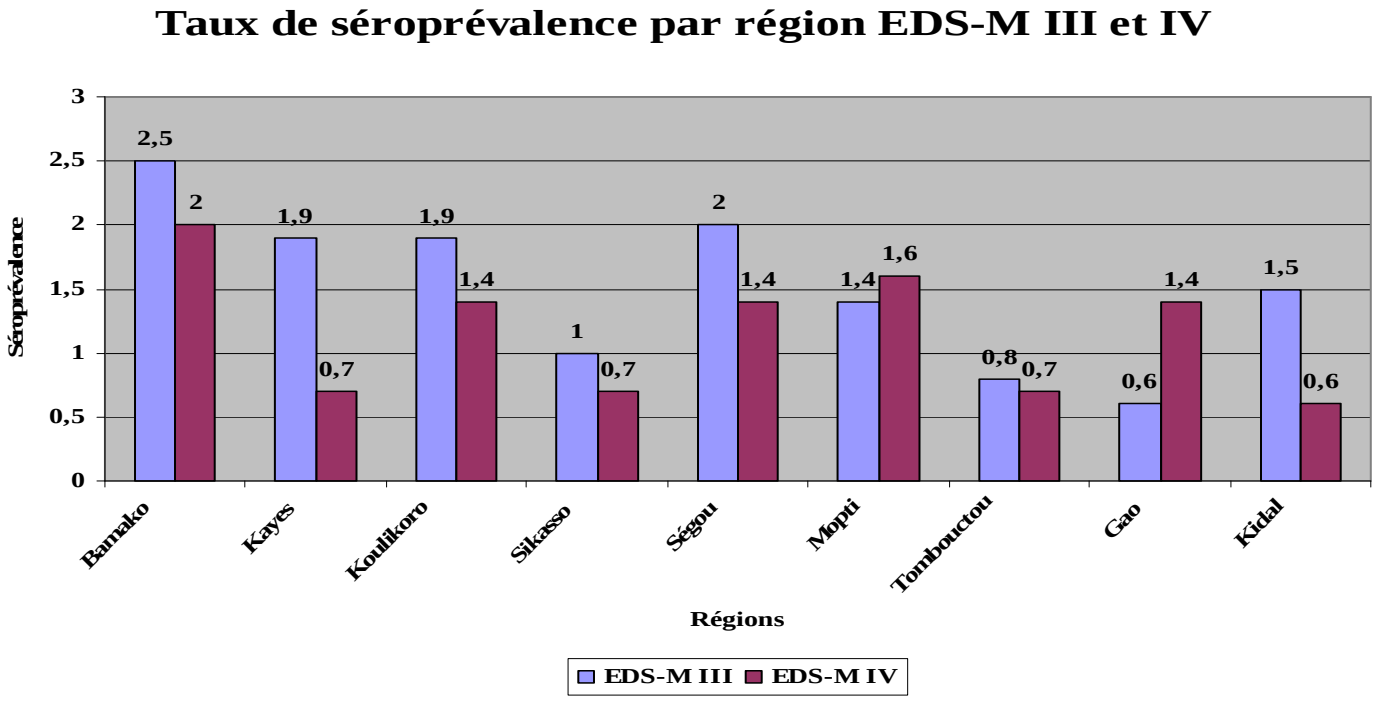
On estime entre 10 et 30 000 le nombre de patients infectés par le VIH-1 du groupe O vivant au Cameroun. Il n'y a, à ce jour, pas d'explication à la diffusion limitée des VIH-1 du groupe O, alors que l'histoire naturelle de l'infection parait très proche si ce n'est identique à celle du VIH-1 du groupe M. Les VIH-1 du groupe O présentent une grande diversité génétique.

L'infection par le VIH-2 concerne majoritairement des patients originaires d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique Centrale, en particulier du Sénégal, de cote d'Ivoire, du Mali, de Guinée-Bissau, du Burkina Faso, mais aussi d'Angola et du Mozambique. Le Portugal et, à un moindre degré, la France, comptent un grand nombre de cas en raison de leurs liens historiques avec des pays de forte prévalence. Huit sous-types VIH-2 ont été répertoriés à ce jour (de A à H), A et B représentant les deux sous-types majoritaires.

2.2. AU MALI

• Les séroprévalences nationale et locale : [8]

Le pourcentage estimé de la prévalence nationale est de 1,3% dont 1,5% pour les femmes et 1% pour les hommes. Selon les résultats de **l'EDS-M IV**. Au Mali la tranche d'âge de 30 à 34 ans a le taux de séroprévalence le plus élevé avec 2,2%.



3. Structure du VIH (figure 1) [9]

Le VIH possède :

- Une enveloppe composée des restes de la membrane de la cellule infectée. Cette enveloppe est recouverte de deux types de glycoprotéines : la première est la gp41 qui traverse la membrane, la seconde est la gp120 qui recouvre la partie de la gp41 qui sort de la membrane.

Une très forte liaison existe entre la gp120 et le récepteur des marqueurs CD4 présent à la surface des cellules CD4+ du système immunitaire. C'est pour cette raison que le VIH n'infecte que des cellules ayant ce récepteur à leur surface, qui sont en très grande majorité les lymphocytes CD4+.

- Un core viral ou nucléocapside, qui inclut une couche de protéine p17 et une couche plus profonde de protéines p24.

- Un génome constitué de deux copies d'ARN simple brin associées à deux molécules de transcriptase reverse (p64) et à d'autres protéines enzymatiques (protéase p10 et intégrase p32).

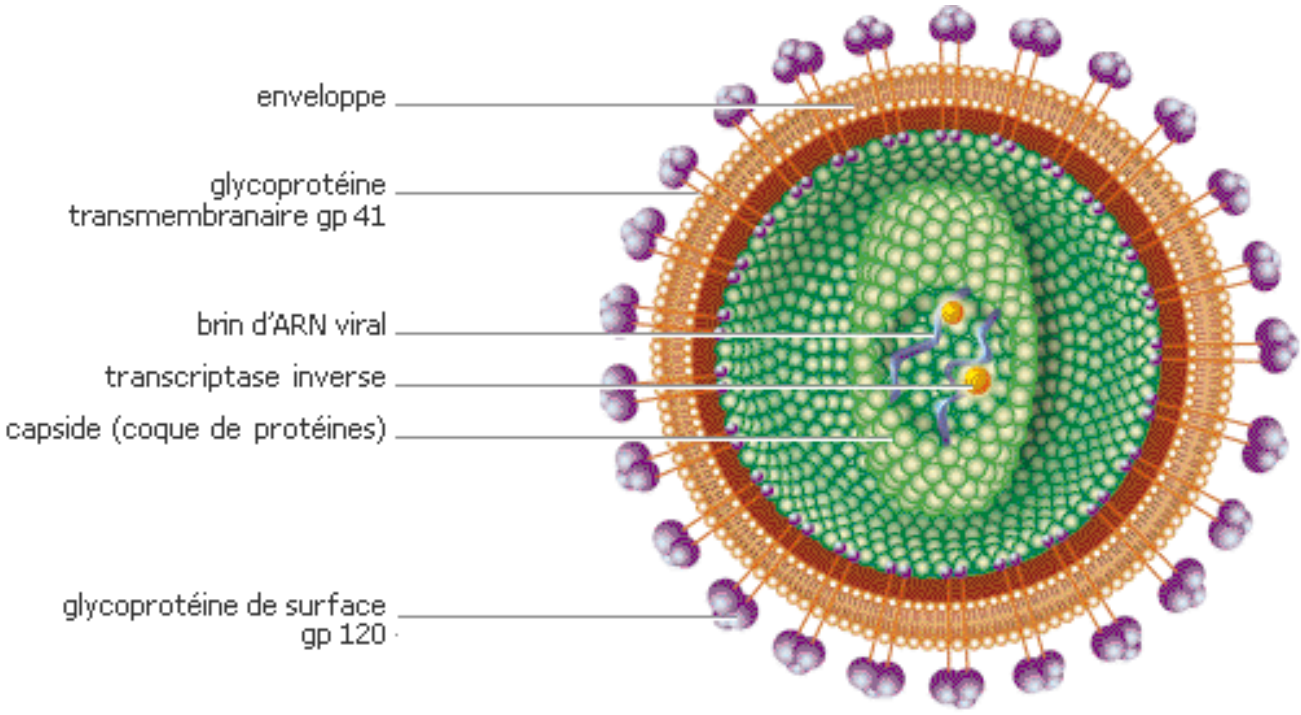


Figure 2 : Structure du Virus HIV [9]

4-Organisation Génétique du Virus : [10]

Le génome qui compte 9200 nucléotides. Il comporte trois gènes principaux (Gag, Pol, et Env.), ainsi que quelques gènes de régulation, de petite taille.

4-1-Le gène gag (Groupe d'antigène) : code une poly protéine qui sera découpée en protéine (de capside, de nucléocapside et de matrice).

4-2-Le gène env. (enveloppe) : code une protéine précurseur qui sera glycosylée (la gp160) puis clivée en transmembranaire gp41 et SU gp120 (SU : surface).

4-3-Le gène pol (polymérase) : code les trois enzymes : la rétro transcriptase, l'intégrase et la protéase.

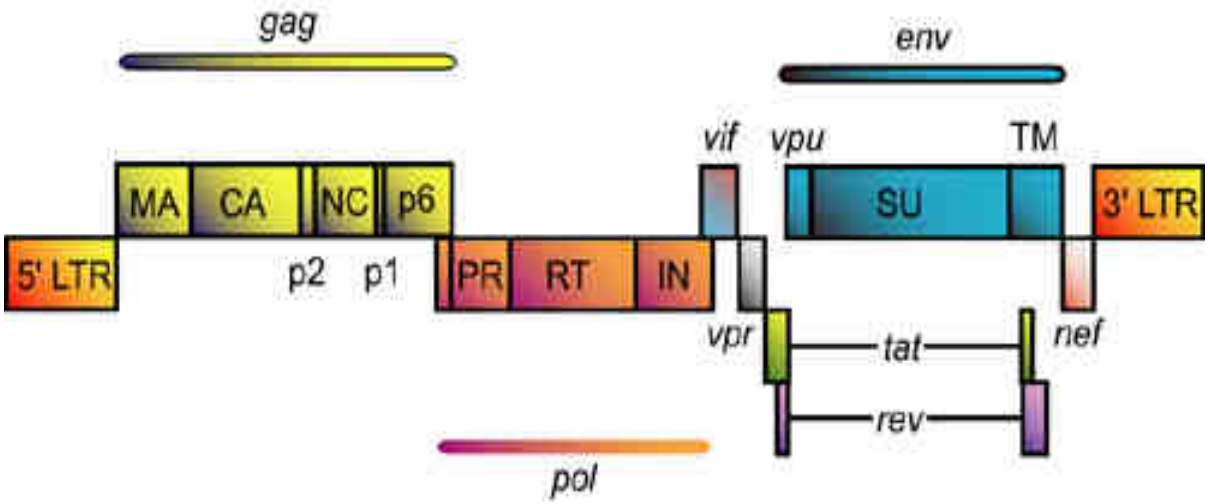


Figure 3 : Représentation schématisée de l'organisation génétique du VIH [10]

5-Physiopathologie du VIH : [11, 12, 13, 14, 15]

5-1-Les cellules cibles :

Les cellules sensibles à l'infection VIH sont la sous population de lymphocytes TCD4+ helper (ou auxiliaire), en particulier les cellules TCD4+ mémoires mais aussi les macrophages ou d'autres cellules - telles les cellules dendritiques et de langherans, ainsi que les cellules microgliales du cerveau. Ces cellules, souvent présentatrices d'antigènes, ainsi que les lymphocytes TCD4+ au repos (resting) jouent un rôle important de réservoirs viraux, de dissémination et d'entrée du virus dans l'organisme.

Dans d'autres cellules, les virus sont simplement emprisonnés sans se répliquer. C'est le cas, par exemple, des cellules folliculaires dendritiques présentes dans les centres germinatifs des ganglions.

5-2- Le cycle de multiplication : [6, 16, 17]

La multiplication du virus consiste en introduction du génome viral dans une cellule et c'est elle qui va fabriquer des nouveaux virus selon un procédé de biosynthèse que l'on appelle réplication. Les principales étapes du cycle réplicatif du VIH sont communes à tous les rétrovirus. Leur connaissance est essentielle à la compréhension de la physiopathologie de l'infection VIH et, surtout, chacune de ces étapes constitue une cible potentielle pour une thérapeutique antirétrovirale.

5-2-1-Fusion du virus :

La première étape est l'entrée en contact du virus et de la cellule.

Les VIH infectent principalement les lymphocytes T CD4 car leur enveloppe peut s'attacher sur la molécule CD4, récepteur spécifique de ces virus. La structure d'attachement du VIH est la glycoprotéine de surface de l'enveloppe, la gp120 (glycoprotéine de 120kD de poids moléculaire).

5-2-2-La pénétration du virus : est la seconde étape de l'infection

Le virus de l'immunodéficience humaine a été reconnu par les récepteurs et pénètre dans la cellule. La membrane lipidique et la membrane cellulaire fusionnent. Uniquement protégés par deux couches superposées (matrice et

capside), les ARN génomiques et les protéines associées vont alors pénétrer dans le cytoplasme de la cellule.

5-2-3- La transcription inverse : Chacun des ARN viraux est associé à une RT polymérase, enzyme assurant la synthèse d'un brin d'ADN à partir de l'ARN viral.

5-2-4-L'intégration :

L'ADN pénètre dans le noyau. Une fois à l'intérieur, il s'insère dans le programme génétique de la cellule cible sous l'effet de l'enzyme intégrase.

5-2-5 Traduction de l'ARN:

Une fois sorti du noyau par l'un des pores nucléaires, l'ARNm est lu par les ribosomes du RER (réticulum endoplasmique rugueux). L'ARNm vient en fait se glisser entre les deux sous unités du ribosome. Pour chaque codon (groupe de trois nucléotides) de l'ARNm, le ribosome attribuera un acide aminé. Ceux-ci se polymériseront au fur et à mesure de la lecture. Un codon initiateur AUG (Adénine-Uracile-Guanine) fera débuter la synthèse tandis qu'un codon stop (UAA ; UGA ; UAG) en manquera la fin.

5-2-6- Le bourgeonnement :

La capside sort de la cellule infectée en arrachant une partie de la membrane cellulaire (à la quelle ont été préalablement fixées les protéines virales de surface (gp120 et gp41).

5-2-7- La maturation :

Une protéase virale doit cliver les liens qui unissent les différentes protéines de structure (matrice, capside et nucléocapside) pour que les virions soient infectieux. Suite aux clivages, les virions sont prêts à infecter de nouvelles cellules.

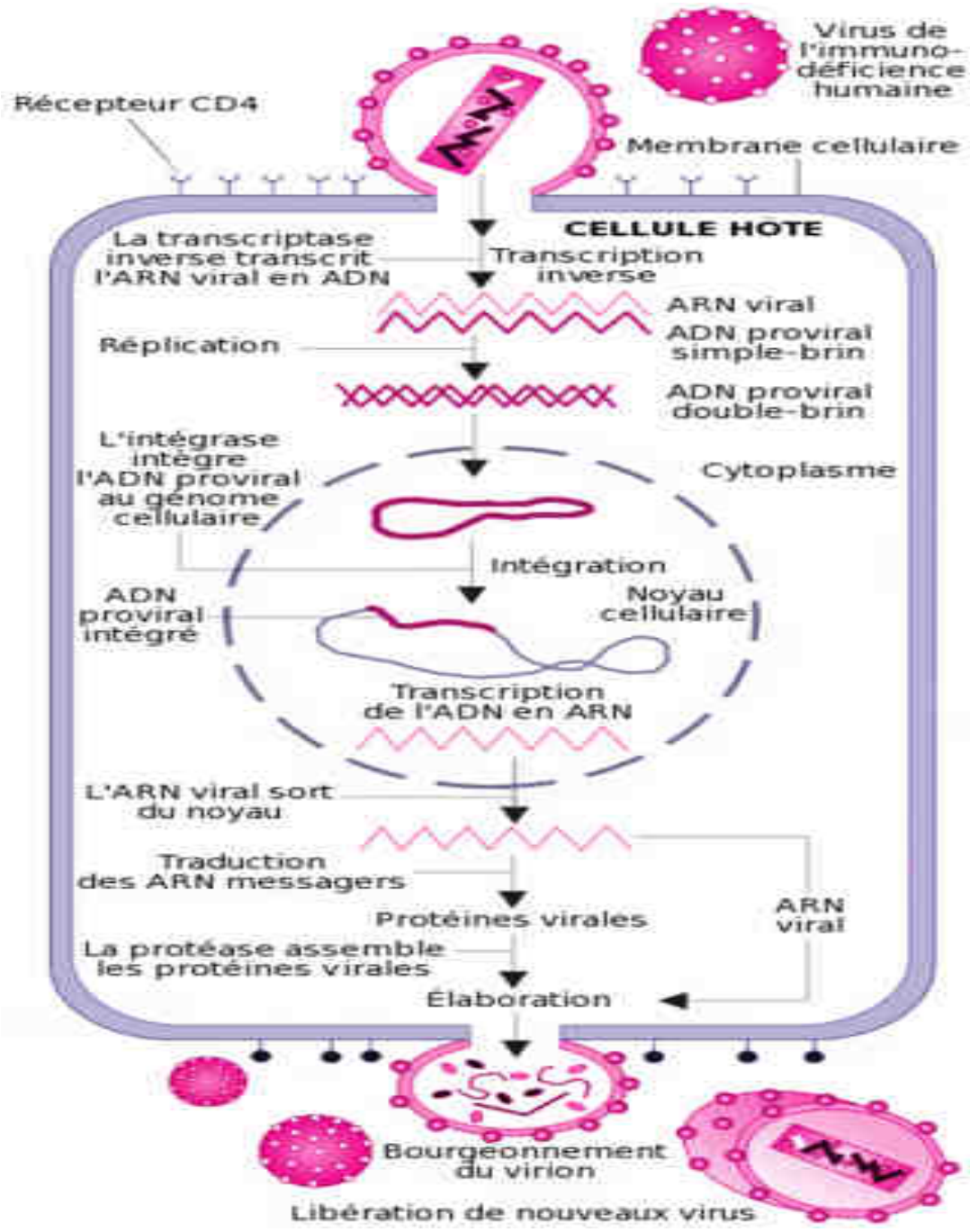


Figure 4 : schéma du cycle de réplication du (VIH) [6]

B. Les Antirétroviraux (ARV)

1 Définition :

Médicaments utilisés dans le traitement de l'infection par le VIH.

Ces médicaments ralentissent la réplication du virus et, par conséquent, sa propagation à l'intérieur du corps [18].

Ils appartiennent à plusieurs familles chimiques et leur classification est basée sur le type enzymatique et sur leur structure chimique. Les molécules testées concernent : les inhibiteurs de la fusion, les inhibiteurs de la transcriptase inverse, les inhibiteurs de l'intégrase, les inhibiteurs des gènes tat et rev, les oligonucléosides antisens, les interferons, les inhibiteurs de protéase, et glucosidases.

Les résultats les plus significatifs ont été obtenus avec :

- Les inhibiteurs de la transcriptase reverse du VIH : comprenant les nucléosidiques et les non nucléosidiques.
- Les inhibiteurs de la protéase du VIH.
- Les preuves spectaculaires de leur efficacité viro-immunologiques et clinique en font les molécules les plus utilisées à ce jour [19].

2 Pharmacologie des antirétroviraux [20]

Les médicaments antirétroviraux sont regroupés en cinq classes pharmacologiques au sein d'une même classe, les caractéristiques pharmacodynamiques (mécanismes d'action sur la cible virale) et pharmacocinétiques(en particulier les voies d'élimination) sont souvent proches. Les caractéristiques pharmacocinétiques (c'est-à-dire absorption, distribution et élimination) conditionnent le niveau d'exposition dans l'organisme. La connaissance de ces propriétés permet d'optimiser le traitement au regard de la puissance virologique du composé et des interactions médicamenteuses entre antirétroviraux. La relation concentration/effet démontrée pour certains de ces médicaments permet de proposer dans certaines circonstances une individualisation de la posologie quotidienne avec l'aide du suivi thérapeutique pharmacologique.

Tableau I : Liste des ARV réceptionnés au LNS

Désignation	Abréviation	Dosage et Présentation
Abacavir	ABC	20mg/ml Sirop Flacon /240ml
Abacavir	ABC	300mg cp, boite/60
Abacavir+ Lamivudine+Zidovudine	(ABC+3TC+AZT)	(300+150+300)mg cp, boite/60
Didanosine	DDI	25mg cp
Didanosine	DDI	50mg cp
Didanosine	DDI	100mg cp, Boîte/ 60
Didanosine	DDI	150mg cp, boîte/60
Didanosine	DDI	200mg gélule, Boîte/30
Didanosine	DDI	250mg gélule, Boîte/30
Efavirenz	EFV	30mg / ml Flacon / 180ml
Efavirenz	EFV	50mg gélule
Efavirenz	EFV	200mg cp
Efavirenz	EFV	200mg gélule, Boîte/90
Efavirenz	EFV	600mg gélule, Boîte/30
Indinavir	IDV	400mg gélule, Boîte/180
Lamivudine	3TC	10mg/ml sol Flacon/240ml
Lamivudine	3TC	50mg/5ml sol Flacon/240ml
Lamivudine	3TC	150mg cp, Boîte/60
Lamivudine+Stavudine	(3TC+D4T)	(30+6)mg cp
Lamivudine+Stavudine	(3TC+D4T)	(60+12)mg cp
Lamivudine+Stavudine	(3TC+D4T)	(150+30)mg cp
Lamivudine+ Stavudine+Névirapine	(3TC+D4T+NVP)	(30+6+50)mg cp
Lamivudine+ Stavudine+Névirapine	(3TC+D4T+NVP)	(60+12+100)mg cp
Lamivudine+ Stavudine+Névirapine	(3TC+D4T+NVP)	(150+30+200)mg cp
Lamivudine+Zidovudine	(3TC+AZT)	(30+60)mg cp
Lamivudine+Zidovudine	(3TC+AZT)	(150+300)mg cp
Lamivudine+Zidovudine+Névirapine	(3TC+AZT+NVP)	(30+60+50)mg cp
Lamivudine+Zidovudine+Névirapine	(3TC+AZT+NVP)	(150+300+200)mg cp
Lopinavir + Ritonavir	(LPV+RTV)	(80+20)mg/5ml Flacon/60ml
Lopinavir + Ritonavir	(LPV+RTV)	(100 +25)mg cp

Lopinavir + Ritonavir	(LPV+RTV)	(200 +50)mg cp
Névirapine	NVP	50mg/5ml sol Flacon/240ml
Névirapine	NVP	200mg cp, Boîte/60
Stavudine	D4T	1mg/ml Poudre pour suspension
Stavudine	D4T	15mg Gélule, Boîte/60
Stavudine	D4T	20mg Gélule, Boîte/60
Stavudine	D4T	30mg Gélule, Boîte/60
Tenofovir	TDV	300mg Cp Boite/30
Tenofovir+Lamivudine	(TDV+3TC)	(300+300)mg cp
Tenofovir+Emtricitabine	(TDV+FTC)	(300+200)mg comp
Tenofovir+Emtricitabine+Efavirenz	(TDV+FTC+ EFV)	(300+200+600)mg cp
Zidovudine	AZT	50mg/5ml sol Flacon /200ml
Zidovudine	AZT	100mg Gélule
Zidovudine	AZT	300mg cp, Boite / 60

3 Pharmacocinétique des antirétroviraux [20]

Les caractéristiques pharmacocinétiques des antirétroviraux disponibles en 2010 sont résumées dans le tableau 1.

Les inhibiteurs nucleos(t)idiques(INTI) de la transcriptase inverse sont des prodrogues d'analogues des substrats de l'enzyme. Seuls leurs dérivés triphosphorylés dans la cellule sont actifs. Le ténofovir est l'unique représentant des analogues nucléotidiques, il est diphosphorylé par la cellule. La biodisponibilité des INTI est en générale bonne (excepté pour le ténofovir, pour lequel des artifices chimique et galénique tendent à l'améliorer). Ils sont peu fixés aux protéines plasmatiques et éliminés dans les urines sous forme inchangés, sauf la zidovudine et l'abacavir qui sont en partie glucuronoconjugués et la didanosine éliminée pour partie en hypoxanthine. Tous les INTI sauf la zidovudine et la stavudine ont des caractéristiques pharmacocinétiques leur permettant d'être administrés en une prise par jour.

Les inhibiteurs non nucléotidiques de la transcriptase inverse(INNTI) sont des inhibiteurs allostériques qui ont pour principales caractéristiques d'avoir une longue demi-vie (>25h), d'être élimines par les cytochromes P450(CYP) hépatiques et de posséder des propriétés inductrices enzymatiques.

Les inhibiteurs de protéase du VIH

Le ritonavir est un inhibiteur puissant du CYP3A. Administré à faible dose (100mg ou 200mg, 1 à 2 fois par jour), il augmente de façon importante les concentrations plasmatiques (voir ci-dessous) des IP associés.

Les inhibiteurs de protéase(IP) associés au ritonavir(IP/r) ont une demi-vie comprise entre 7 et 13h. Ils sont d'abord en partie métabolisés dans les entérocytes et en partie élimines via les transporteurs d'efflux (ce qui explique une faible biodisponibilité pour certains d'entre eux) ;ils sont ensuite métabolisés dans le foie par les cytochromes CYP3A(CYP3A4 et CYP3A5) pour lesquels ils ont une forte affinité, ce qui les confère des propriétés inhibitrices(voir ci-dessous). Certains IP, en particulier le tipranavir, sont par ailleurs inducteurs des enzymes et/ou transporteurs (voir ci-dessous). La prise des IP/r avec un repas, augmente leurs concentrations et est donc recommandée.

L'oubli de prise est probablement plus délétère pour les schémas thérapeutiques en monoprise quotidienne par rapport à ceux en 2 prises par jour, en particulier pour les IP/r dont la demi-vie est courte. Les données des essais récents font réserver la monoprise des IP/r (lopinavir, darunavir, fosamprénavir) aux patients naïfs de traitement antirétroviral.

Les INNTI et les IP/r ont des caractéristiques pharmacocinétiques complexes, en particulier une non-linéarité concentration/dose qui explique que l'augmentation des concentrations ne soit pas proportionnelle à l'augmentation de la dose administrée. On estime que l'état d'équilibre est en général atteint au bout de 10 à 15 jours de traitement.

Les inhibiteurs d'entrée empêchent la pénétration du virus dans la cellule hôte.

L'enfuvirtide est un inhibiteur de fusion, peptide de 36 acides aminés. Il est administré par voie sous cutanée deux fois par jour, car il est dégradé par voie orale. Son métabolisme est indépendant du CYP3A.

Le maraviroc est un antagoniste du co-récepteur CCR5 du VIH. Avant toute prescription, il y a lieu de s'assurer que le tropisme viral est de type CCR5 exclusif, la molécule étant inefficace sur les souches virales de tropisme CXCR4 ou mixte. La demi-vie est d'environ 13h. Il est en partie métabolisé par le CYP3A4. La dose quotidienne à administrer devra tenir compte des antirétroviraux associés et du degré d'insuffisance rénale (voir paragraphe interactions médicamenteuses).

Les inhibiteurs de l'intégrase constituent une nouvelle classe d'antirétroviraux. Le raltégravir, seul représentant de cette classe à avoir une AMM en 2010, a une demi-vie d'environ 9h et est administré en 2 prises par jour. Sa pharmacocinétique se caractérise par une importante variabilité de l'absorption intestinale et une élimination par glucuronoconjugaison indépendante des CYP. L'elvitegravir est en cours d'essais cliniques de phase III ; associé au ritonavir, sa demi-vie est d'environ 10h.

Tableau II. Paramètres pharmacocinétiques des antirétroviraux disponibles en 2010

	F[1] (%)	Tmax (heure)	Fp (%)	Elimination	T1/2 (heures)
Abacavir	75(S)	1	49	<5%rein+enz hepatiques	0,8-1,5(21 intracell.)
Didanosine	40(A)	1	<5	50% rein	1-2(15-20intracell.)
Emtricitabine	90(S)	1	<5	80% rein	9(39intracell.)
Lamivudine	80(S)	1	<5	80% rein	2-3(10-15intracell.)
Stavudine	80(S)	1	<5	80% rein	1-1,5(3-5intracell.)
Zidovudine	60(S)	1	20	20%rein+80%conjugaison	1-1,5(3-5intracell.)
Ténofovir	40(R)	2-3	<10	80%rein	14(>60intracell.)
Efavirenz	50(S)	2-5	99,5	<1%rein+CYP2B6	50
Névirapine	90(S)	4	60	<15%rein+CYP2B6+3A4	25-30
Etravirine	ND	4	99,9	<1%rein+CYP3A+CYP2C	30-40
Amprenavir[2,3]	30-90(S)	2	90	<5%rein+CYP3A	12-15
Atazanavir[3]	ND(R)	2	86	<10%rein+CYP3A	8-9
Darunavir[3]	ND(R)	1-4	94	<5%rein+CYP3A	15
Indinavir[3]	60(A)	1	60	<10%rein+CYP3A	4
Lopinavir/r	ND(R)	5	99	<5%rein+CYP3A	5-6
Indinavir[3]	70(R)	3	99	<5%rein+CYP3A	3-5
Saquinavir[3]	4-10(R)	1-2	97	<5%rein+CYP3A	5
Tipranavir[3]	ND(R)	3	99	<5%rein+CYP3A	6(dose unique)
Enfuvirtide	70(voie SC)	7	97	Peptidases→acides aminés	3-8
Maraviroc	25-35%(S)	2	76	25%rein+CYP3A	13
Raltégravir	ND(R)	3	83	5%rein+UGT1A1	9
Elvitegravir[3]	ND(R)	5	ND	5%rein+CYP3A	10

[1]F : biodisponibilité ;Tmax :temps d'obtention du pic plasmatique ;Fp :fixation aux protéines plasmatiques ;T1/2 :demi-vie ;S :repas sans effet cliniquement significatif ;R :le repas augmente la biodisponibilité ;A :à jeun (le repas diminue la

biodisponibilité) ;intracell. :dérivé triphosphorylé intracellulaire ;ND :non déterminé

[2] Après administration de fosemprénavir, l'amprenavir est retrouvé dans la circulation systémique.

[3] Sauf indications contraires, caractéristiques pharmacocinétiques en présence de ritonavir (biodisponibilité améliorée, demi-vie allongée).

4. Classification [21, 22]

Les ARV sont classés suivant leurs sites d'action :

4.1. Les Inhibiteurs Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse

4.1.1. Structures chimiques (CF annexes)

Selon la structure chimique, nous avons :

- les analogues de la thymidine

La Zidovudine (AZT, ZDV)

3'-azido-2'3'-didésoxythymidine

La Stavudine (D4T)

2', 3' didéhydro-2', 3' didésoxythymidine

Emtricitabine (FTC)

- les analogues de la cytidine

La Lamivudine (3TC)

2', 3'- didésoxy-3'-thiacytidine

- les analogues de l'inosine

La Didanosine (DDI)

2',3'-didésoxyinosine

- Les analogues de l'adénine (analogue carboxylique de nucléoside)

Abacavir (ABC)

4.1.2. Mécanisme d'action :

Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse exercent une compétition avec les nucléosides naturels sur la transcriptase inverse et bloquent l'élongation de l'ADN viral. Ils sont actifs sur le VIH-1 et sur le VIH-2. Les inhibiteurs Nucléosidiques ont en commun le devoir être triphosphorylés.

4. 2. Les Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse

4. 2. 1. Structures chimiques (CF annexes)

4. 2. 2 Mécanisme d'action

Ils agissent sur le site allostérique de la transcriptase inverse ; ils modifient la configuration du site actif et le rendent inapte à remplir sa fonction de polymérase, ce qui arrête la formation de l'ADN pro viral. Ces molécules sont actives uniquement sur la transcriptase inverse du VIH1.

Les différentes molécules sont :

Efavirenz ; Névirapine ; Étravirine

4.3. Associations Thérapeutiques Fixes:

4.3.1. Zidovudine (AZT) + Lamuvidine (3TC)

Spécialité : Combivir® / Duovir® (Labo Cipla)

Présentation :

Comprimé (lamivudine150mg+Zidovudine300mg) en association fixe ; boite de 60 comprimés.

Posologie :

Elle est de 1 comprimé toutes les 12 heures par voie orale.

Contre indication :

Hypersensibilité connue à l'un des composants ;

Troubles hématologiques sévères (Hb<7,5g/dl).

4.3.2. Zidovudine (AZT) +Lamuvidine (3TC) +Abacavir (ABC)

Spécialité : Trizivir®

Présentation :

Comprimé contenant 300mg de Zidovudine+ 150mg de Lamuvidine+ 300mg d'Abacavir ; boite de 60 comprimés.

Posologie :

1 comprimé toutes les 12 heures.

Indication :

Elle est indiquée dans le traitement de l'infection à VIH chez l'adulte et chez l'adolescent ayant plus de 12 ans.

4.3.3. Stavudine (D4T) +Lamuvidine (3TC) + Nevirapine (NVP)

Spécialité : Triomune ® (Labo Cipla)

Présentation :

Comprimé contenant 150mg de 3TC + 200mg de NVP + 30mg de D4T.

Comprimé contenant de 150mg de 3TC + 200mg de NVP + 40mg de D4T (Mais retiré sur le marche).

Posologie :

1 comprimé toutes les 12 heures.

Indication :

Infection à VIH chez l'adulte et chez les enfants.

Contre indication :

Hypersensibilité connue à l'un des composants.

4.3.4. Zidovudine (AZT) + Lamuvidine (3TC) + Nevirapine (NVP)

Spécialité : Duovir-N (Labo Cipla)

Présentation :

Comprimé contenant 150mg de 3TC + 200mg de NVP + 300mg de AZT

Posologie :

1 comprimé toutes les 12 heures.

Indication :

Infection à VIH chez l'adulte et chez les enfants.

Contre indication :

Hypersensibilité connue à l'un des composants.

4.3.5. Lopinavir (LPV) + Ritonavir (RTV)

Famille : inhibiteur de protéase (lopinavir) potentialisé par un inhibiteur du CYP450 à faible dose.

Spécialité : Kaletra® (Labo.Abbott)

Présentation :

Capsule molle contenant : 133,3mg de lopinavir + 33,3mg de ritonavir ;

Solution buvable contenant : 42% d'alcool et : 80mg/ml de lopinavir + 20mg/ml de ritonavir.

Comprimé Metrex® contenant : 200mg de lopinavir + 50mg de ritonavir.

Indication :

Infection à VIH-1 de l'adulte et de l'enfant de plus de 2 ans.

Posologie recommandée :

Adultes et Adolescents :

LPV/RTV : 400/100mg x 2/j.

Enfant :

LPV/RTV : 230/57,5 à 300/75 mg/m² x 2/j.

Administration : au cours ou en dehors des repas.

Contre indication :

Hypersensibilité à l'un des composants.

Insuffisance hépatique sévère.

Association à certains médicaments, inducteurs ou substrats du CYP3A4.

Effets secondaires :

Troubles cutanéo-muqueux : éruptions cutanées, sécheresse de bouche.

Nausées, vomissement, douleurs abdominales.

Hypercholestérolémie (8.5%) et hypertriglycéridemie (8%) avec risque de pancréatite.

Elévation de : ASAT, ALAT, Glycémie.

4.3.6. Lamivudine (3TC) + Abacavir (ABC)

Spécialité : Kivexa® (GalaxoSmithKline)

Présentation :

Comprimé pelliculé à : 300mg de lamivudine + 600mg d'abacavir.

Indication :

Infection à VIH de l'adulte et l'adolescent de plus de 12 ans.

Posologie :

1comprimé par jour.

Administration :

Au cours ou en dehors des repas.

Contre indication :

Hypersensibilité connue à l'un des composants du produit.

Insuffisance hépatique sévère.

4.3.7. Emtricitabine (FTC) + Ténofovir disoproxil (TDF)

Spécialité : Truvada® (Gilead)

Présentation :

Comprimé pelliculé à : 200mg d'emtricitabine + 245 mg de ténofovir disoproxil.

Indication :

Traitement de l'infection à VIH-1 chez l'adulte.

Posologie :

1 comprimé par jour.

Administration :

Avec la nourriture (un repas léger suffit).

Contre indication :

Hypersensibilité connue à l'un des composants.

Co-administration avec un autre médicament contenant de l'emtricitabine, du ténofovir, ou un autre analogue de la cytidine (3TC)

4.3.8. Emtricitabine (FTC) + Ténofovir disoproxil (TDF) + Efavirenz (EFV)

Spécialité : Atripla® (Gilead/Bristol-Myers-Squibb) / Viraday ® (Cipla)

Présentation :

Comprimé pelliculé à : 200mg de FTC + 300mg de TDF + 600mg d' EFV.

Indication :

Infection à VIH-1 de l'adulte.

Posologie :

1 comprimé par jour.

Administration :

Avec de la nourriture (un repas léger suffit).

Contre indication :

Hypersensibilité connue à l'un des composants.

Insuffisance hépatique sévère (efavirenz).

Grossesse, Allaitement.

4. 4. Les Inhibiteurs de la Protéase :

4. 4. 1. Structures chimiques (CF annexes)

4. 4. 2. Mécanisme d'action :

Les IP du VIH agissent au niveau du processus d'assemblage des protéines virales nouvellement synthétisées en utilisant l'action d'une enzyme clé qui est la protéase.

Ils sont métabolisés par les enzymes du complexes CYP .Ils sont par conséquent impliqués dans des interactions médicamenteuses avec les produits(substances) et les substrats inducteurs ou inhibiteurs de ces enzymes.

La protéase du VIH clive les polypeptides précurseurs permettant de générer les protéines structurelles et enzymatiques du virion .En présence des anti-protéases, des virions immatures sont produits, lesquels sont incapables d'infecter de nouvelles cellules. Les IP sont actifs également sur les lymphocytes T CD4 activés et sur les cellules présentatrices d'antigènes telles que les macrophages.

4. 5. Nouvelles molécules :

4. 5. 1. Inhibiteurs de la fusion

4. 5. 1. 1 Structures chimiques (CF annexes)

L'inhibiteur de fusion le plus connu et actuellement disponible est l'enfuvirtide. Initialement appelé T20 il se fixe sur la gp41 empêchant ce dernier de remplir son rôle, inhibant ainsi la fusion des membranes et donc l'entrée du virus dans les cellules hôtes. Administre par voie sous-cutanée matin et soir (deux fois/j).

4. 5. 2. Inhibiteurs de l'intégrase :

4. 5. 2. 1 Structures chimiques (CF annexes)

Premiers représentants de cette classe sont MK-0518 et le GS-9137 qui sont actifs sur les souches de VIH-1 résistantes aux autres classes d'antirétroviraux.

4. 5. 2. 1 .MK-2048

MK-2048 est une molécule de la classe des anti-intégrase, développée par Merck & Co.

Elle est actuellement en essais cliniques de phase II.

La molécule offre un profil de résistance différent de ceux du raltégravir et de l'elvitégravir, et les personnes ayant développé des résistances à ces médicaments pourront donc bénéficier du MK-2048, décrit comme inhibiteur d'intégrase de nouvelle génération [20].

5.3. Inhibiteurs des co-récepteurs CCR5 et CXCR4 [23]

La classe des inhibiteurs de CCR5 comprenait trois composés (aplaviroc, maraviroc, vicriviroc).

Le développement de l'aplaviroc a été interrompu précocement du fait d'une hépatotoxicité.

Les essais du vicriviroc ont été interrompus chez les patients naïfs d'ARV du fait d'une efficacité inférieure à celle du comparateur (Efavirenz). Il en a été de même avec le maraviroc lorsqu'il était administré en une prise par jour.

C. Traitement antirétroviral :

1. Objectif [20] :

A titre individuel, l'objectif principal du traitement antirétroviral est d'empêcher la progression vers le sida en maintenant ou en restaurant un nombre de lymphocytes CD4 >500/mm^3.

Pour atteindre ce but, le traitement antirétroviral doit rendre la charge virale plasmatique indétectable (<50 copies/ml), ce qui maximalise la restauration immunitaire et minimalise le risque de sélection de virus résistants.

Au plan individuel, si l'efficacité immunovirologique est l'objectif principal du traitement antirétroviral, d'autres objectifs doivent être recherché simultanément :

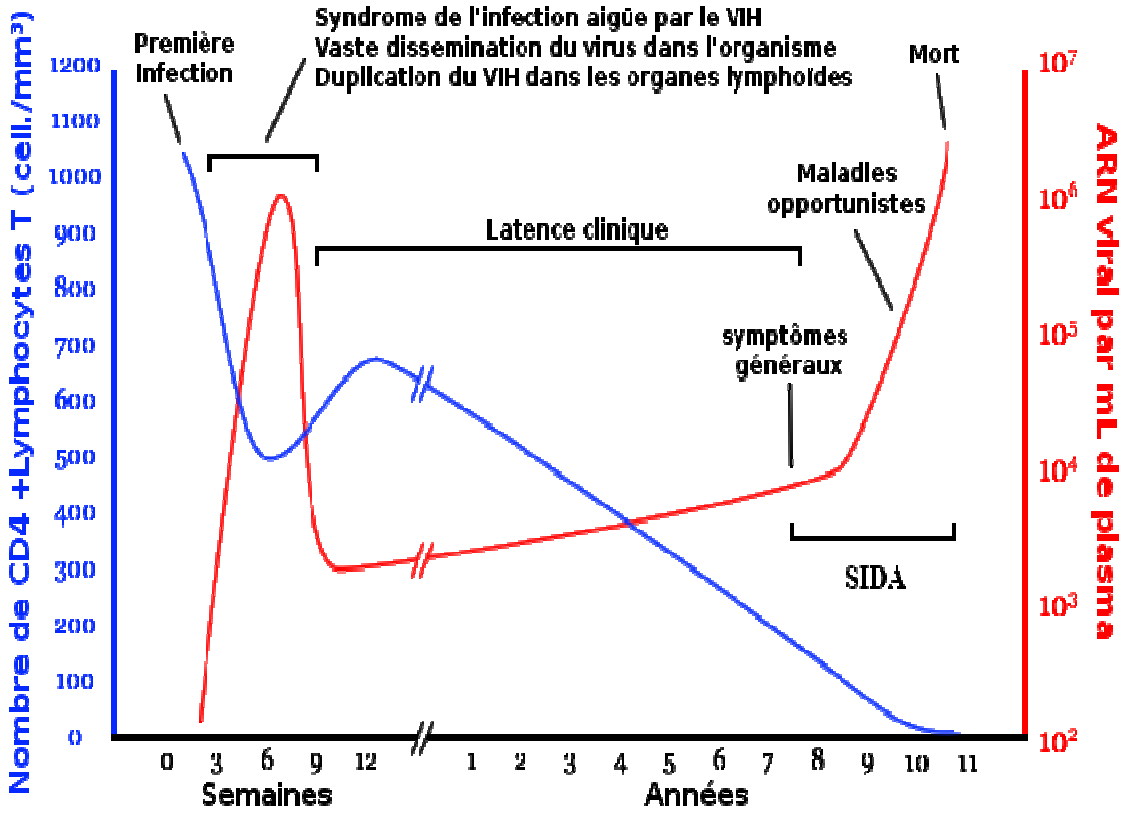
La meilleure tolérance possible, clinique et biologique à court, moyen et long terme ;

L'amélioration ou la préservation de la qualité de vie,

La réduction de la transmission du VIH.

Par ailleurs, dans une perspective de prévention collective, des données nouvelles suggèrent que le traitement antirétroviral pourrait constituer un outil performant de réduction du risque de transmission du VIH. Plusieurs études observationnelles ont démontrés la réduction du risque de transmission sexuelle du VIH chez les patients sous traitement antirétroviral. Dans une étude longitudinale au sein d'une cohorte de couples sero-différents en Afrique, on a pu calculer que l'efficacité protectrice du traitement antirétroviral du partenaire infecté vis-à-vis du partenaire non infecté est de 92%(IC 95%43%-99,8). Le souhait de réduire le risque de transmission sexuelle du VIH peut donc désormais constituer un argument recevable pour l'initiation d'un traitement antirétroviral.

Évolution de la charge virale et du système immunitaire



Les valeurs temporelles de la phase de latence clinique (ou phase asymptomatique) ne sont qu'une moyenne. Cette phase peut en effet aussi bien durer 1 an que 16, selon l'individu [6]

2. Principes [24]:

C'est un traitement à vie, qui nécessite une excellente observance de la part des patients et un suivi intensif de la part des personnels soignant.

Le traitement antirétroviral est une trithérapie associant généralement deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) à un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI) ou un inhibiteur de protéase (IP).

Les combinaisons thérapeutiques fixes doivent être privilégiées pour favoriser l'observance et diminuer le coût de la prise en charge pour le pays.

Les molécules utilisées doivent figurer sur la liste des médicaments essentiels du Mali ou bénéficier d'une autorisation spéciale et seront nécessairement pré qualifié par l'OMS et une qualification.

D. Données essentielles sur le médicament et le contrôle de qualité

1. Médicament

1. 1 Définition

Le médicament est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines et/ou animales ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques [25].

1- 2 Les éléments constitutifs du médicament.

Le médicament est constitué de trois éléments principaux :

1- 2. 1 Principe actif

C'est une substance susceptible de prévenir ou de faire cesser un trouble déterminé de l'organisme. En d'autres termes l'élément possédant les propriétés curatives et préventives du médicament.

1- 2. 2 Excipient ou adjuvant

C'est une substance ou mélange de substances inactives par elles-mêmes sur la maladie qui utilisé dans la formulation, facilite la préparation et l'emploi du médicament. L'excipient en outre peut jouer un rôle important dans la libération du principe actif à partir du médicament et par là modifier son activité thérapeutique.

1- 2. 3 Conditionnement ou emballage : il existe deux types

- Le conditionnement primaire: c'est l'élément indispensable du médicament car il joue un rôle de protection c'est-à-dire isole et conserve le médicament dans le temps. Il peut avoir un rôle fonctionnel en facilitant l'emploi du médicament.
- Le conditionnement secondaire: il permet la manipulation et le transport du médicament (carton), ainsi qu'un rôle d'identification et d'information pour le malade [26].

1- 3 Lot et numéro de lot :

1- 3. 1 Lot :

Quantité d'un médicament qui est fabriquée au cours d'un cycle donné de fabrication. La qualité essentielle d'un lot de fabrication est son homogénéité.

1- 3. 2 Numéro de lot :

C'est la désignation (imprimée sur l'étiquette d'un médicament sous forme de chiffres et/ou de lettres) qui identifie le lot et permet de retrouver et de vérifier toute la série, d'opérations, y compris celles de fabrication et de contrôle, qui ont abouti à sa production [27].

1- 4 Médicaments essentiels

Ces médicaments doivent satisfaire aux besoins de la majorité de la population en matière de santé. Ils doivent être efficaces, de qualité prouvée, être facilement utilisables, être disponibles à tout moment, avoir le moins d'effets indésirables possible, être accessibles financièrement. Ils sont mentionnés sur la liste nationale des médicaments essentiels en vigueur ou en son absence celle de l'OMS [28].

1- 5 Génériques et contrefaçons

- Génériques : Le médicament générique est une copie légale d'un médicament original dont le brevet est arrivé à expiration. Il est commercialisé sous sa dénomination commune internationale (D. C. I) ou sous un nouveau nom commercial.
- Contrefaçon : C'est une copie frauduleuse d'une marque et peut en outre constituer une double faute, non seulement sur la marque mais aussi sur le contenu. Pour tromper le consommateur, le contrefacteur utilise une marque en essayant de reproduire à l'identique l'aspect de l'emballage, le graphisme, le sigle. Le contenu peut être par ailleurs frauduleux pour maximiser le profit [29].

1- 6 Dénomination commune internationale (D. C. I)

Selon OMS, c'est le nom reconnu à l'échelle mondiale pour designer chaque substance pharmaceutique en substitution à son nom chimique rarement simple [30].

2. Contrôle de Qualité

La qualité est l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou d'un service qui lui donne l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés du client. La qualité d'un médicament revêt plusieurs aspects.

L'usage sûr et efficace des médicaments dépend premièrement de leur qualité et deuxièmement de leur utilisation [31].

La désignation « qualité » appliquée à un médicament exige :

- Qu'il contienne la qualité et la quantité de chaque principe actif inscrit sur l'étiquette dans les limites applicables de ces spécifications :
- Qu'il contienne la qualité et la quantité de chaque dose unitaire ;
- Qu'il soit exempt de substances étrangères ;
- Qu'il maintienne son dosage, sa biodisponibilité, son apparence jusqu'à l'utilisateur;
- Qu'après administration, il libère le principe actif avec une entière disponibilité.

L'objectif principal du contrôle de qualité est d'étudier les normes pour les propriétés du produit, d'évaluer les résultats et de rejeter les produits qui n'atteignent pas les normes [30].

2.1 Assurance de la qualité

L'assurance de qualité dans une industrie pharmaceutique se situe en aval, en amont et à tous les stades de la production depuis le contrôle des matières premières (principes actifs et excipients), la mise en application des Bonne Pratiques de Fabrication dans toutes les opérations jusqu'au contrôle du produit fini au laboratoire, sans oublier l'attention portée aux emballages [28].

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

Il s'agit des éléments de l'assurance de la 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 [32].

2.3 Système OMS de certification

Ce système est destiné à permettre aux pays importateurs d'obtenir des autorités compétentes des pays exportateurs une confirmation officielle du fait que les produits pharmaceutiques importés avaient bien obtenu l'autorisation de mise sur le marché des pays d'origine. Ces autorités doivent aussi confirmer que les fabricants sont soumis à des contrôles réguliers et les conditions de fabrication sont conformes aux B.P.F recommandées par l'OMS [33].

2.4 Autorisation de Mise sur le Marché (AMM)

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 [34].

2. 5 Normes de qualité

Les spécifications comportent un ensemble de normes judicieusement choisies et assorties de méthodes d'analyse, pouvant être utilisées pour évaluer l'intégrité des médicaments ou formes pharmaceutiques et des matières premières. Pour s'assurer de l'uniformité de tous les lots d'un médicament présenté sous une ou plusieurs formes, il est nécessaire d'établir une norme appropriée pour l'identité, la pureté, la teneur, le comportement et d'autres caractéristiques. C'est le strict respect de ces normes qui permettent d'obtenir la qualité souhaitée [35].

3. Méthodes d'Analyse

3. 1 EXAMEN VISUEL

· Mode opératoire

Retirez au moins 20 comprimés ou 20 capsules de leur conditionnement et examinez-les visuellement. Ils ne doivent pas être endommagés; la surface doit être lisse et généralement de couleur uniforme. Une instabilité physique peut se manifester par les signes suivants :

- présence de quantité excessive de poudres ou de fragments de comprimés au fond du récipient (provenant de comprimés érodés, écrasés ou brisés);
- fissures, décallotages ou laminage de la surface ou de l'enrobage, gonflement, marbrures, coloration anormale, adhérence entre les comprimés.
- présence de cristaux sur les parois.

On peut aussi constater des prises en masse des poudres pour suspensions orales [27].

3. 2 ETIQUETAGE

Toutes les préparations pharmaceutiques doivent être conformes aux normes d'étiquetage spécifiées dans les BPF.

· Mode opératoire

Vérifier que les indications suivantes figurent sur l'étiquette du récipient:

- nom du produit;
- nom du ou des principes actifs; chaque fois que possible, on adoptera la D.C.I;
- quantité du ou des principes actifs présents dans chaque comprimé, chaque capsule ou chaque conditionnement de poudre et le nombre de comprimés ou capsules dans le récipient;
- numéro de lot attribué par le fabricant ;
- date de fabrication si possible ;
- date de péremption ;
- éventuellement, conditions particulières de conservation ou précautions à prendre lors de la manipulation ;
- mode d'utilisation, avertissements et précautions d'emploi, le cas échéant ;
- nom et adresse du fabricant ou de la personne responsable de la mise sur le marché [32].

3. 3 ESSAIS

3. 3. 1 Uniformité de masse

Mode opératoire

- Cas des comprimés: Peser individuellement 20 unités ou pour les préparations unidoses présentées en récipients individuels, le contenu de 20 unités prélevées au hasard et déterminer la masse moyenne. La masse individuelle de 2 au plus des 20 unités peut s'écarter de la masse moyenne d'un pourcentage plus élevé que celui qui est indiqué dans le tableau 1, mais la masse d'aucune unité ne peut s'écarter de plus du double de ce pourcentage.

Tableau III: Uniformité de masse pour comprimé

Forme pharmaceutique	Masse moyenne	Ecart en pourcentage	Nombre de comprimés
Comprimés non enrobés et comprimés pelliculés	Moins de 80mg	± 10,0	Minimum 18
		± 20,0	Maximum 2
	80-250mg	± 7,5	Minimum 18
		± 15,0	Maximum 2
	Plus de 250mg	± 05	Minimum 18
		± 10,0	Maximum 2

Dans le cas des capsules, on opère comme suit: Peser une capsule pleine. Sans perdre de fragments de l'enveloppe, ouvrer la capsule et la vider aussi complètement que possible. Peser l'enveloppe et calculer la masse du contenu par différence. Répéter l'opération sur 19 autres capsules [32].

NB: Cet essai est très important, car il détermine la prise d'essais. Une mesure imprécise influencerait les résultats obtenus.

Tableau IV : Uniformité de masse pour capsule et poudre

Forme pharmaceutique	**Masse nette du contenu des capsules**	**Ecart limite en pourcentage**	**Nombre de comprimés**
Capsules, granulés non enrobés et poudre (en unité de prise)	Moins de 300mg	± 10,0	Minimum 18
		± 20,0	Maximum 2
	Plus de 300mg	± 7,5	Minimum 18
		± 15,0	Maximum 2

3. 3. 2 Volume moyen

· Mode opératoire

C'est un essai qui concerne les formes liquides (sirops, lotions, les injectables et les suspensions).

On prend une éprouvette graduée et on transfère le contenu d'au moins deux flacons puis on lit le volume correspondant sur le cylindre. Faire la moyenne qui ne doit pas dépasser 5% du volume indiqué sur l'étiquette [26].

3. 3. 3 Détermination du pH

Le pH est un nombre caractéristique d'une solution : Il représente par convention son acidité ou son alcalinité [36].

3 .3. 4 Test de désagrégation

Cet essai est destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des comprimés et des capsules à se désagréger en milieu liquide, dans le temps prescrit. En utilisant l'appareil dans les conditions expérimentales décrites ci-dessous, 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 (capsules) [37].

Cet essai ne concerne pas les comprimés à croquer et les comprimés vétérinaires. Le temps de désagrégation doit être comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau V : temps maximal de désagrégation.

Formes pharmaceutiques	Temps en minute
Comprimés enrobés	≤ 60
Comprimés non enrobés	≤ 15
Comprimés pelliculés	≤ 30
Gélules	≤ 30

3. 4 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 [38].

3. 4. 1 Tests colorés

Les tests colorimétriques font appel à des réactions engendrées par une fonction chimique ou un ensemble de fonctions [39].

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.

4. Notion générale sur le Spectrophotomètre UV/Visible et la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).

4. 1 Rappel théorique sur le spectrophotomètre UV/visible

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert.

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

4. 1. 1 Principe

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité Ide la lumière transmise est donc inférieure à I_0. On définit l'absorbance de la solution comme :

$$A = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

On parle aussi de transmittance définie par la relation :

$$T = \frac{I}{I_0}$$C'est-à-dire que $A = -\log T$

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

La relation de Beer-Lambert décrit que, 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 :

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \, l \, c$$

$A_\lambda$est l'absorbance ou la densité optique (sans unité) de la solution pour une longueur d'onde λ ;

c(en mol.m^{-3}) est la concentration de l'espèce absorbante ;

l(en m) est la longueur du trajet optique ;

ε_λ(en $mol^{-1}.m^2$) est le coefficient d'extinction molaire de l'espèce absorbante en solution. Il rend compte de la capacité de cette espèce à absorber la lumière, à la longueur d'onde λ.

Selon la loi de Beer-Lambert, l'absorbance est additive (mais non la transmittance). Ainsi, pour une solution contenant plusieurs espèces absorbantes, l'absorbance de la solution est la somme de leurs absorbances. Pour n espèces absorbantes :

$$A = \sum_{i=1}^{n} A_i(\varepsilon_{\lambda,i}, l = 1cm, c_i) = \varepsilon_{\lambda,1}\ c_1 + \varepsilon_{\lambda,2}\ c_2 + ... + \varepsilon_{\lambda,n}\ c_n$$

Domaine UV-visible de la spectrophotométrie

Un soluté coloré ou chromophore absorbe la lumière visible (longueurs d'onde comprises entre 400 et 800 nm). On parle de spectrophotocolorimétrie ou plus simplement de colorimétrie. Certaines solutions absorbent dans l'ultraviolet (longueurs d'onde inférieures à 380 nm), on parle alors de spectrophotométrie UV. Les infrarouges ne sont pas utilisés en spectrophotométrie car ils dépendent surtout de la température de la solution et non de sa concentration, ils sont plutôt couverts par la spectroscopie en infrarouge. La spectrophotométrie est plus spécifique que la spectroscopie qui couvre d'autres longueurs d'ondes du spectre électromagnétique.

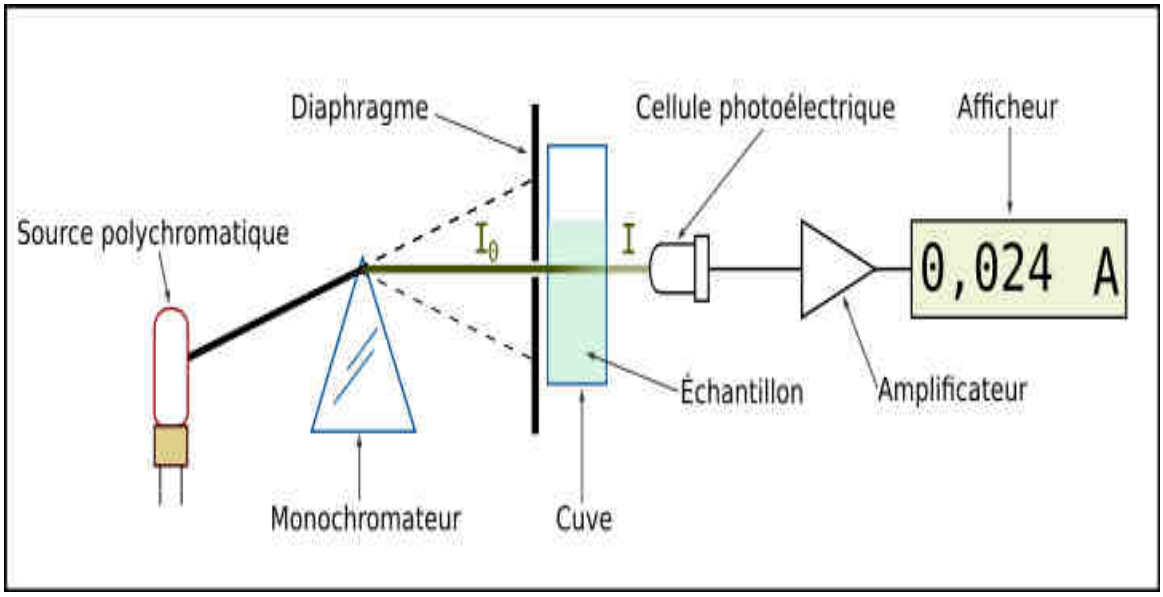


Figure 5 : Schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible monofaisceau

Un spectrophotomètre mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée. Un dispositif monochromateur permet de générer, à partir d'une source de lumière visible ou ultraviolette, une lumière monochromatique, dont la longueur d'onde est choisie par l'utilisateur. La lumière monochromatique incidente d'intensité I_0 traverse alors une cuve contenant la solution étudiée, et l'appareil mesure l'intensité I de la lumière transmise. La valeur affichée par le spectrophotomètre est l'absorbance à la longueur d'onde étudiée. Le spectrophotomètre peut être utilisé pour mesurer de manière instantanée une absorbance à une longueur d'onde donnée, ou pour produire un spectre d'absorbance (spectrophotomètre à balayage). Dans ce dernier cas, le dispositif monochromateur décrit en un temps court l'ensemble des longueurs d'onde comprises entre deux valeurs choisies par l'opérateur.

Limites

Plusieurs facteurs peuvent dégrader la loi de Beer-Lambert et limiter la validité de la spectrophotométrie :

Le domaine de mesure idéal est pour les valeurs de T situées entre 20 et 60%.

Plusieurs aberrations optiques liées à la diffusion, la réflexion et la diffraction de la lumière peuvent fausser la mesure.

Les phénomènes de fluorescence ainsi que d'autres particularités chimiques liées aux espèces absorbantes peuvent interférer.

Plus la densité du soluté est importante, plus le faisceau de lumière incident sera réfracté avec une valeur donnée. Cette tendance est normalement infime mais devient plus prononcée avec les hautes concentrations. Ainsi, la réfraction réduit l'intensité de la lumière transmise et l'instrument indique faussement une absorbance plus élevée. Généralement, ce phénomène peut être évité en travaillant avec des concentrations inférieures à 0,01 $mol.l^{-1}$ [40].

4. 1. 2 Description du spectrophotomètre

Un spectrophotomètre est composé de trois éléments principaux :

- Un émetteur ;
- Un analyseur ;
- Une cellule de mesure.

a. L'émetteur :

Est constitué d'une lampe qui produit le rayonnement lumineux et d'un Monochromateur qui « filtre » la lumière pour ne laisser passer qu'une lumière monochromatique.

Il y a généralement deux lampes : une lampe à hydrogène ou à deutérium dont le spectre va de 120 nm à 400 nm et une lampe à filament de tungstène ou à vapeur d'halogène dont le spectre va de 350 nm à 900 nm. L'association de ces deux lampes permet donc de couvrir tout le spectre du proche UV au visible. Le monochromateur est un système (prisme ou réseau) qui permet de sélectionner à partir d'une lumière poly chromatique, une longueur d'onde déterminée.

b. L'analyseur :

Est composé d'un système qui permet de transformer un signal lumineux en un signal électrique, lui même converti en valeur numérique lue sur le cadran de mesure.

c. La cellule d'analyse :

Est un système qui permet d'intercaler sur le trajet du Faisceau lumineux les échantillons à étudier. L'élément principal est une cuve en verre ou en quartz dont le modèle le plus courant est un parallélépipède à base carrée de 1 cm de trajet optique ayant deux faces opposées parfaitement parallèles et transparentes et deux faces dépolies. La manipulation des cuves se fait toujours par les faces dépolies. Le spectrophotomètre doit avoir une sortie pour le branchement d'un enregistreur afin de pouvoir enregistrer les spectres d'absorption [41].

NB1 : Ne jamais utiliser de cuve en verre dans la région du spectre UV pour la raison que le verre absorbe en UV/Visible.

4. 2 Rappel théorique sur la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) [6]

La chromatographie en phase liquide à haute performance — **CLHP**, mais on trouve plus fréquemment l'abréviation anglaise **HPLC** *(high performance liquid chromatography)* depuis les années 1990 — est une technique de séparation analytique en fonction de l'hydrophobicité et préparative des molécules d'un composé ou un mélange de composés. Pour certains, HP signifie « haute pression ».

Cette forme de chromatographie est fréquemment utilisée en biochimie, ainsi qu'en chimie analytique.

4. 2. 1 Principe

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelée phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les "grains" sont de très petite taille). Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants. En effet, pour un même volume de phase stationnaire la surface d'échange augmente si les "grains" qui la composent sont de diamètre plus petit. Les pics obtenus sont plus étroits donc la résolution est améliorée (les pics sont bien séparés, on peut donc bien les différencier), le seuil de détection est également plus bas (des pics étroits et hauts sont plus faciles à isoler du bruit de fond que des pics larges et bas). La combinaison de ces attributs - rapidité et résolution élevées - conduit à l'appellation « haute performance ».

Les solvants utilisés sont des combinaisons miscibles d'eau et de divers liquides organiques (alcools, acétonitrile, dichlorométhane, ...).

Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit "gradient" ou "élution graduée" (en opposition au mode "isocratique", pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de l'analyse). Par exemple, sur une colonne apolaire, en utilisant un mélange eau/méthanol comme phase mobile, les composants les plus hydrophobes sont élués avec une concentration élevée en méthanol alors que

les composants plus hydrophiles sont élués préférentiellement avec une concentration faible en méthanol. Selon la nature de la phase stationnaire, on commencera par une concentration élevée en méthanol ou le contraire.

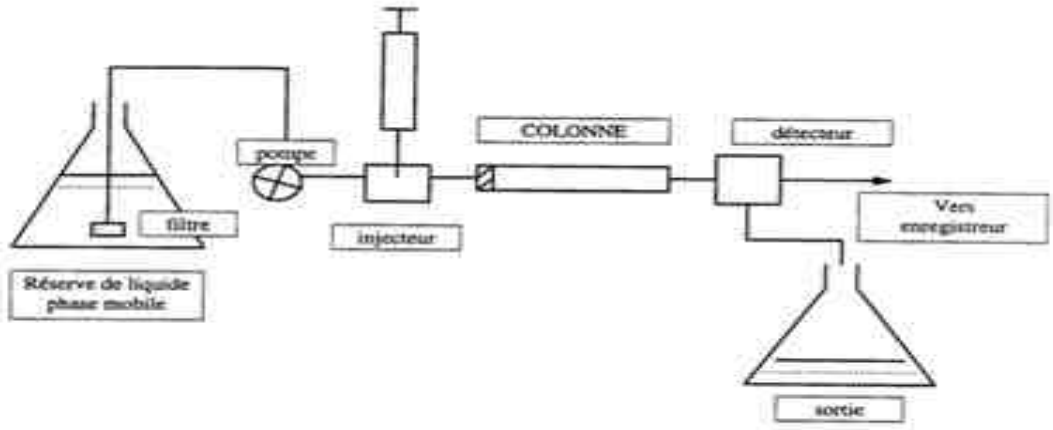


Figure 6:principe de fonctionnement de l'HPLC

4. 2. 2 Description de la CLHP

La pompe

C'est la partie qui sert à stocker l'éluant et à l'injecter sous pression dans la colonne. Elle est composée de :

- Deux pistons alternatifs
- Réservoirs de phase mobile
- Électrovannes
- Amortisseur de pulsations
- Système de purge et d'amorçage
- Capteur de pression

On utilise une pompe pour une élution isocratique ou plusieurs pour une élution par gradient.

L'injecteur

Des tubes en acier inoxydable, en Teflon, en PEEK ou en silice fondue permettent de relier la ou les pompes à l'injecteur chromatographique. Il y a plusieurs types d'injecteurs :

- Boucle d'injection : permet la répétabilité du volume d'injection
- Injecteur seringue
- Extraction sur phase solide en ligne

La colonne

Elle dépend du type de chromatographie en phase liquide que l'on veut faire et donc de la nature et du nombre de composés que l'on veut séparer. Il peut y avoir plusieurs colonnes parallèles. Il y a donc plusieurs types de chromatographies en phase liquide :

La chromatographie d'adsorption

Dans cette chromatographie, la phase stationnaire consiste en une matière solide à grand pouvoir d'adsorption, tel que l'oxyde d'aluminium, les silicates de magnésium, les gels de silice. Les composants sont simplement plus ou moins retenus à la surface de la phase stationnaire par adsorption physique. C'est une technique qui prend en compte la polarité des composants.

La chromatographie de partage.

Dans cette chromatographie les analytes sont séparés en fonction de leur affinité avec les phases stationnaire et mobile. L'affinité dépend de la polarité des analytes et des phases. En mode normal la phase stationnaire est polaire, en mode inverse elle est apolaire. Il y a deux types de chromatographie de partage :

- *liquide - liquide* : la phase stationnaire consiste en une très fine couche de liquide répartie par adsorption physique à la surface du matériau support le plus inerte possible. Les composants sont séparés comme dans une extraction liquide-liquide, sauf que la répartition des composants se fait lors du passage dans la phase liquide et non par agitation.
- *liquide - solide* ou *liquide - phase greffée* : la phase stationnaire consiste en une espèce organique liée par des liaisons chimiques à la surface des particules du matériau support.

La chromatographie par échange d'ions

La phase solide est une résine insoluble munie de groupes fonctionnels capable de dissocier. Ce sont, habituellement, des groupes "acide sulfonique" (SO_3H) pour les échangeurs de cations et "ammonium quaternaire" ($N(R)_3$) pour les échangeurs d'anions.

La chromatographie d'exclusion stérique

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

La chromatographie chirale

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

Le détecteur

Il existe plusieurs types de détecteurs :

- Détecteur à absorption UV ou visible
- Détecteur à indice de réfraction
- Détecteur UV à barrette de diodes (DAD)
- Détecteur à fluorescence
- Détecteur de type spectromètre de masse (MS)
- Détecteur évaporatif à diffusion de la lumière (DEDL)
- Détecteur électro-chimique (DEC)

4.2.3 Les différentes phases stationnaires :

Phase normale

Les colonnes en phase normale sont des colonnes dont la phase stationnaire est polaire et acide.

La phase normale la plus utilisée est à base de gel de silice : à sa surface se trouvent des groupes silanols (-OH) et des groupes siloxanes (-O-). Ces groupes permettent à la silice de retenir les composés à analyser par des liaisons hydrogènes.

Cette phase sert ainsi principalement à séparer des composés polaires.

Phase inverse

La base d'une phase inverse est une phase normale sur laquelle des chaînes alkyles (ou autres selon la polarité recherchée) ont été greffées au niveau des groupes silanols (*end-capping*). En général, la phase stationnaire est majoritairement composée de petites particules de silice sur lesquels on a greffé des fonctions chimiques, le plus souvent de chaines alkyles à 8 ou 18 atomes de carbones.

Les fonctions silanols (Si-OH) qui subsistent engendrent des interactions hydrophiles parasites, qui rendent les résultats non reproductibles surtout pour les molécules basiques. Pour éviter cela, la surface de la silice est généralement recouverte par une fonction méthyle et les fonctions silanols ne sont plus libres mais sous la forme (Si-O-CH_3), c'est cette étape que l'on appelle "end-capping". Les fonctions chimiques utilisées pour le "*end-capping*" peuvent toutefois être de nature très diverses et les colonnes de dernières générations résistant à des pH extrêmes sont généralement "*end-capped*" avec des fonctions proposant une plus grande gène stérique, tel que le tert-butyle (Si-O-C(CH_3)$_3$).

Selon le taux de greffage, on obtient une plus ou moins grande résolution.

Cette phase stationnaire est dite "inverse" car de polaire et hydrophile (sans les "greffes"), la phase devient apolaire et hydrophobe [42].

4.2.4 Les organes

a) Un réservoir de solvant (éluant) qui contient la phase mobile en quantité suffisante. Plusieurs flacons d'éluant (solvants de polarités différentes) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'élution (mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables) à l'aide de la pompe doseuse.

b) 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.

c) Vanne d'injection : c'est un injecteur à boucles d'échantillonnage. Il existe des boucles de différents volumes, nous utiliserons une boucle de 20µl. 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.

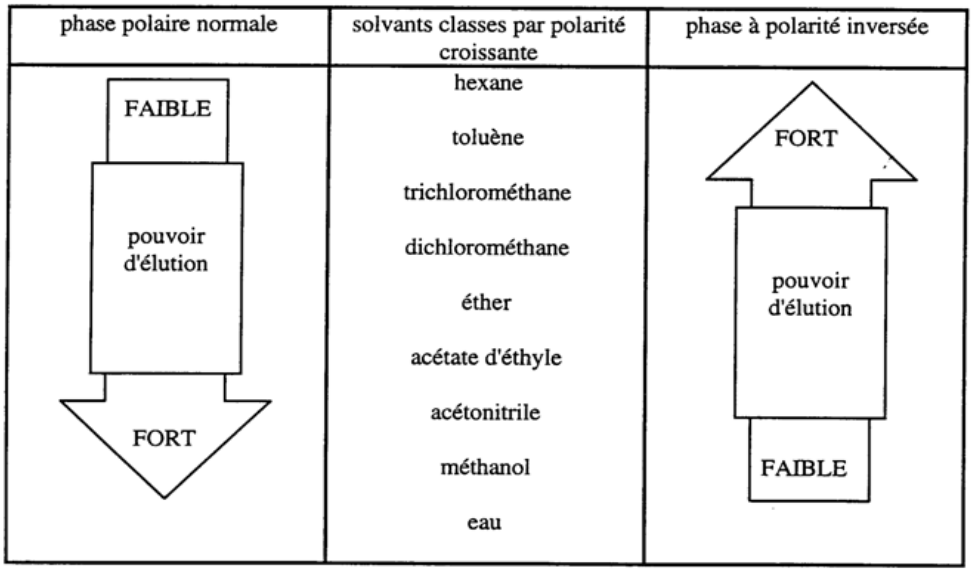
d) La colonne : une colonne est un tube construit dans un matériau le plus possible inerte aux produits chimiques, souvent en inox ou en verre. Sa section est constante, de diamètre compris entre 4 et 20 mm pour des longueurs généralement de 15 à 30 crn. Au delà, les importantes pertes de charges exigeraient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

e) 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 (C_8 et C_{18}).Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (ACN, MeOH, H_20). 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'élution 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.

Tableau VI : pouvoir d'élution de la phase mobile en HPLC



f) 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.

* 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 [43].

TRAVAUX PERSONNELS

II. MÉTHODOLOGIE

1. Type, lieu et période d'étude.

C'est une étude retroprospective et prospective de la qualité des ARV contrôlés au Laboratoire National de la Santé du Mali à Bamako sur la période allant de janvier 2009 à décembre 2010.

2. Echantillonnage.

Notre étude a porté sur tous les médicaments ARV réceptionnés et tous les médicaments ARV analysés au LNS de janvier 2009 à décembre 2010.

3. Outils de collecte des données.

Les données ont été récoltées dans des cahiers d'enregistrement de la réception, du laboratoire d'analyse, de la saisie des résultats et les copies des résultats archivés.

4. Critères d'inclusion.

Etaient inclus dans notre étude, tous les ARV réceptionnés et analysés au LNS de janvier 2009 au décembre 2010.

5. Critères de non inclusion.

Etaient non inclus dans notre étude tous les ARV qui n'ont pas été réceptionnés et analysés au LNS de janvier 2009 au décembre 2010.

6. Saisie et traitement des donnés.

Les donnés ont été saisies et traitées sur Microsoft Excel 2007.

7. Considérations éthiques

Le protocole de l'étude a été approuvé par la Direction du LNS. L'étude a été conduite conformément aux principes de bonne pratique de laboratoire en vigueur et le strict respect de la confidentialité des résultats d'analyse.

8. TECHNIQUES D'ANALYSE

Les techniques d'analyse employées sont celles reconnues soit comme méthode interne soit en référence aux méthodes autorisées par :

- ✓ Dossier du Fabricant ;
- ✓ Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, Volume 2; 3ème edition ;
- ✓ Manuel GPHF ;
- ✓ Les pharmacopées (européenne, américaine et internationale).

Les différentes techniques utilisées ont concerné :

8.1 L'étiquetage

Sur le conditionnement, on s'assure que l'étiquette répond aux normes de Bonnes Pratiques de fabrication.

8.2 Les caractères visuels

A partir d'un examen visuel, l'aspect et la couleur ont été déterminés.

8.3 L'identification

Pour identifier nos molécules, nous avons utilisé :

- la **spectrophotométrie UV-Visible** (AGILENT 8453) pour les principes actifs non associés.

Protocole d'analyse : la pharmacopée Clarke's Analysis of Drugs and Poisons ; Volume 2 ; Third edition

- **la CLHP** (AGILENT 1100) pour Lamivudine ; Stavudine ; Névirapine et Zidovudine en association ou non associés.

Protocole d'analyse : Dossier Technique du fabricant.

8.4 Les essais

Nous avons recherché :

- le Poids moyen et l'écart type : ils ont été réalisés à partir de la balance SCALTEC, SPB 31, Max 210g
- le Volume moyen
- le test de coloration
- le temps de désagrégation (Manuel ou mécanique avec un désagrégateur de marque ERWEKA ZT320)

8.5 Le dosage

Pour doser nos molécules, nous nous sommes servis :

- du **spectrophotomètre UV-Visible** (AGILENT 8453) pour les principes actifs non associés.

  Protocole d'analyse : la pharmacopée Clarke's Analysis of Drugs and Poisons ; Volume 2 ; Third edition et les pharmacopées (européenne, américaine et internationale).
- de la **chaine CLHP** (AGILENT 1100) pour Lamivudine ; Stavudine ; Névirapine et Zidovudine en association ou non associés.

  Protocole d'analyse : Dossier Technique du fabricant.

Conditions chromatographiques :

Colonne	Hypersil BDS C18, 5µm 150mmx4,6mm		
Phase Mobile A	Acétate d'ammonium 0,1M		
Phase Mobile B	Acetonitrile		
Gradient	Temps (minute)	A (%)	B (%)
	0	93	7
	2	93	7
	8	75	25
	9	75	25
	10	93	7
	15	93	7
Débit	1,5ml/min		
Détection UV	λ=270nm		
Volume d'injection	10µl		
T°c de la colonne	Ambiante		
Diluant	Méthanol 75%-Eau bidistillée 25%		
Concentration	Lamivudine 0,15mg/ml ; Stavudine 0,04mg/ml ; Névirapine 0,20mg/ml et Zidovudine 0,30mg/ml		

9. MATERIELS et EQUIPEMENTS

9.1 MATERIELS

- Becher ;
- Cylindre ;
- Fiole ;
- Pipette ;
- Seringue ;
- Filtre et filtre-seringue de porosité 0.45 µm ;
- Spatule ;
- Papier d'aluminium.

9.2 EQUIPEMENTS

- Spectrophotomètre UV-Visible (AGILENT 8453) ;
- CLHP (AGILENT 1100) ;
- Balance électronique (SCALTEC de précision $10^{-4)}$;
- Hotte (erlab) ;
- Etuve (WTB binder) ;
- Ultrason (BRANSON) ;
- Unité de filtration sous vide (MILLIPORE) ;
- pH-mètre (WTW inoLab) ;
- Désagrégateur (ERWEKA) ;
- Bi distillateur (MODEL : 909 909)

10. REACTIFS

Les différents réactifs utilisés pendant notre étude sont les suivantes :

- HCl 0,01N (J.T Baker et PROLABO)
- Soude 0,01N et 1N (PROLABO)
- Acétate d'ammonium (PROLABO)
- Acétonitrile grade CLHP (Scharlau et Sigma-Aldrich)
- Méthanol grade CLHP (Panreac et Sigma-Aldrich)

11. NORMES DE CONFORMITE

Les échantillons sont considérés conformes lorsque toutes les déterminations du protocole analytique sont conformes aux normes données dans les pharmacopées et le dossier technique AMM.

III. RÉSULTATS

1. Répartition des échantillons suivant la réception

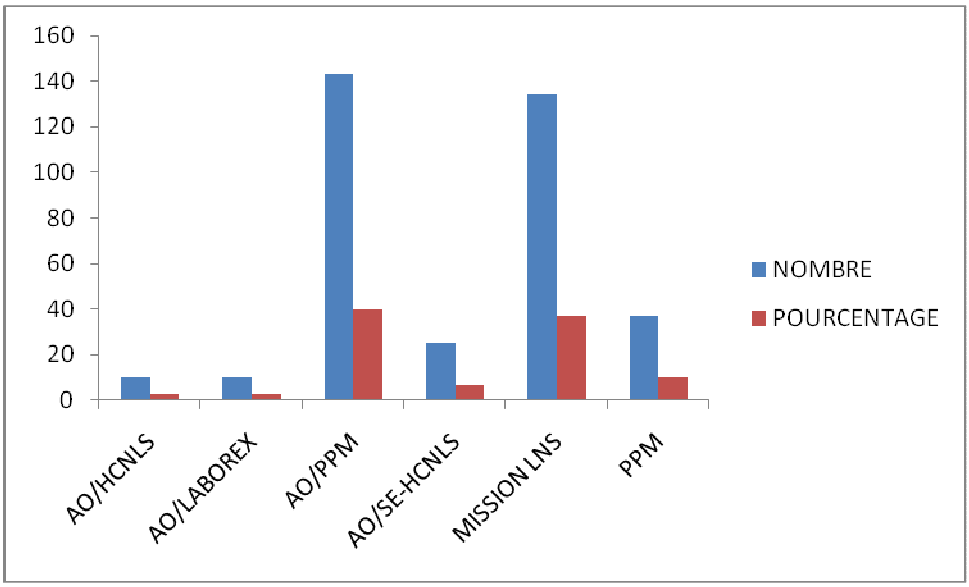
Au total 359 échantillons d'ARV ont été réceptionnés de janvier 2009 en décembre 2010 au LNS.

Tableau VII. Répartition des échantillons réceptionnés selon le laboratoire fabricant et le pays d'origine.

LABORATOIRE	PAYS	NOMBRE	POURCENTAGE
Cipla	Inde	205	57,10
Aurobindo pharma	Inde	69	19,22
Matrix Laboratories	Inde	45	12,53
Strides Arcolab	Inde	12	3,34
Hetero Drugs Limited	Inde	11	3,06
Abbott Laboratories	Royaume Uni	6	1,67
Bristol Myers Squibb	France	5	1,39
Merck Sharp et Dohme	Hollande	3	0,84
Roxane Laboratories	USA	2	0,56
Abbott Laboratories	USA	1	0,28
Total		**359**	**100**

La majorité des échantillons d'ARV réceptionnés (57,1%) pour analyse a été fabriquée par Cipla en Inde. En plus 95,26% des médicaments étaient fabriqués par les laboratoires Indiens.

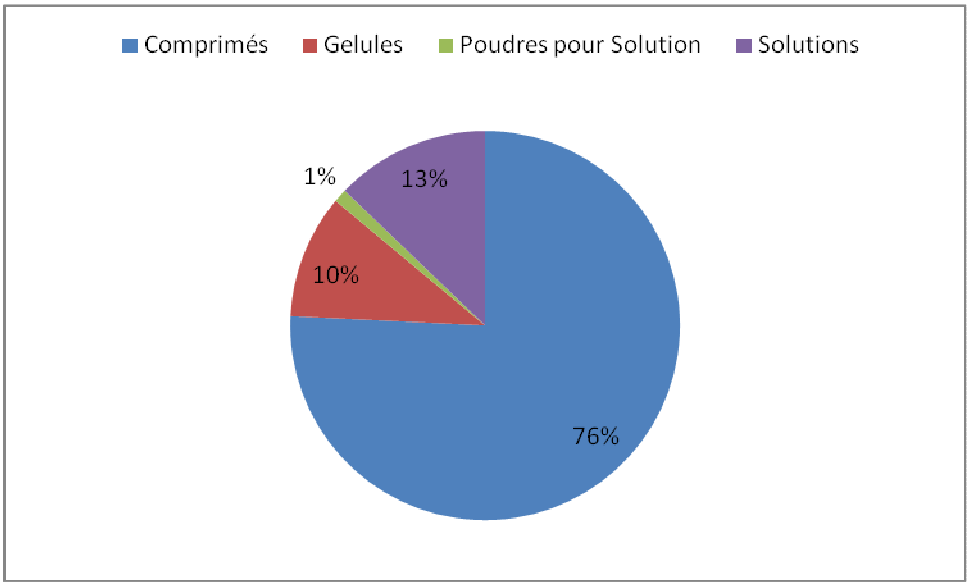
Répartition des échantillons réceptionnés selon la provenance.



Graphique 1 : Répartition des échantillons réceptionnés selon la provenance.

La majorité des échantillons reçus provenait des appels d'offre de la PPM avec 39,8%.

Répartition des échantillons réceptionnés selon la forme galénique.



Graphique 2 : Répartition des échantillons réceptionnes selon la forme galénique.

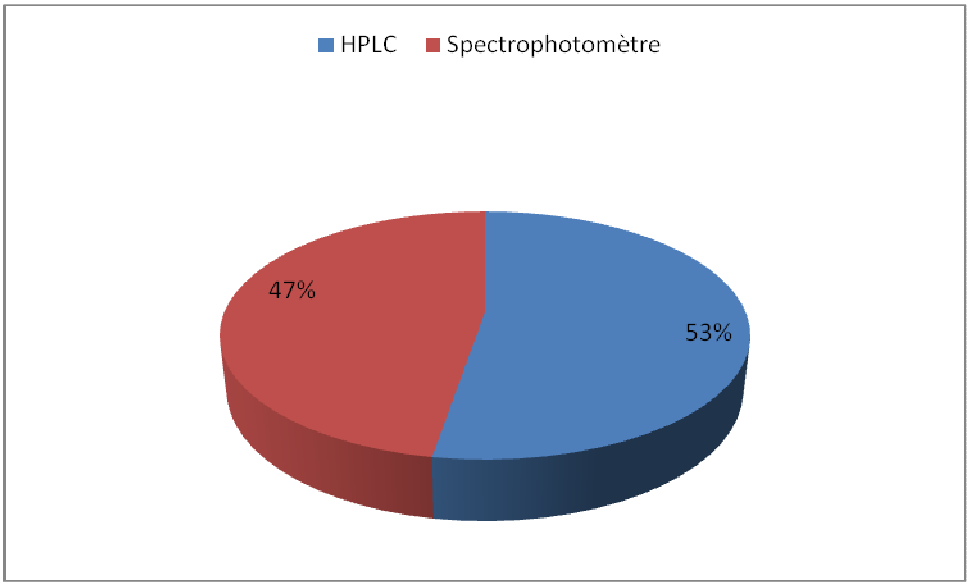
La forme comprimé a été la plus représentée avec 272 soit 75,7%

Tableau VIII. Répartition des échantillons réceptionnés selon les principes actifs.

PRINCIPE ACTIF	NOMBRE	POURCENTAGE
Lamivudine+Stavudine+Nevirapine	51	14,21
Lamivudine+Zidovudine	32	8,91
Lopinavir+Ritonavir	32	8,91
Lamivudine+Zidovudine+Nevirapine	31	8,64
Efavirenz	29	8,08
Nevirapine	29	8,08
Zidovudine	26	7,24
Lamivudine+Stavudine	25	6,96
Lamivudine	23	6,41
Abacavir	20	5,57
Didanosine	18	5,01
Stavudine	18	5,01
Tenofovir+Emtricitabine+Efavirenz	8	2,23
Tenofovir d'Isoproxil	6	1,67
Tenofovir d'Isoproxil+Lamivudine	4	1,11
Abacavir+Lamivudine+Zidovudine	3	0,84
Tenofovir d'Isoproxil+Emtricitabine	3	0,84
Indinavir	1	0,28
TOTAL	**359**	**100**

Neuf (09) combinaisons thérapeutiques d'ARV ont été réceptionnées aucours de notre étude avec l'association lamivudine/stavudine/névirapine qui était la plus représentée soit 14,21%.

Répartition des échantillons réceptionnés selon le type d'équipement de dosage au LNS.



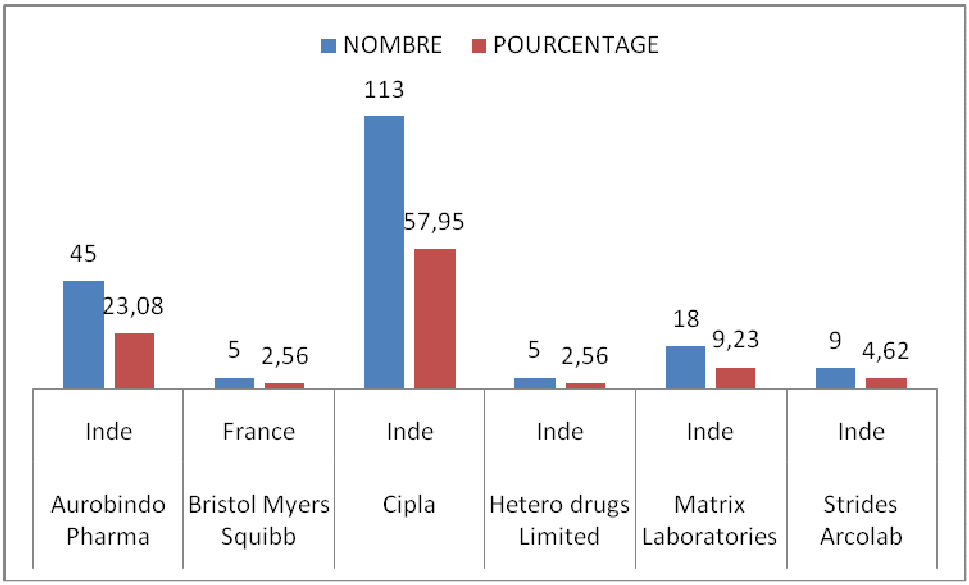
Graphique 3 : Répartition des échantillons réceptionnes selon le type d'équipement de quantification au LNS.

La majorité (52,65%) des échantillons réceptionnés devraient être quantifiée par HPLC.

2. Répartition des échantillons suivant l'analyse.

Au total 195 échantillons d'ARV ont été analysés de janvier 2009 en décembre 2010 au LNS.

Répartition des échantillons analysés selon le laboratoire fabricant et pays d'origine.



Graphique 4 : Répartition des échantillons analyses selon le laboratoire et pays d'origine.

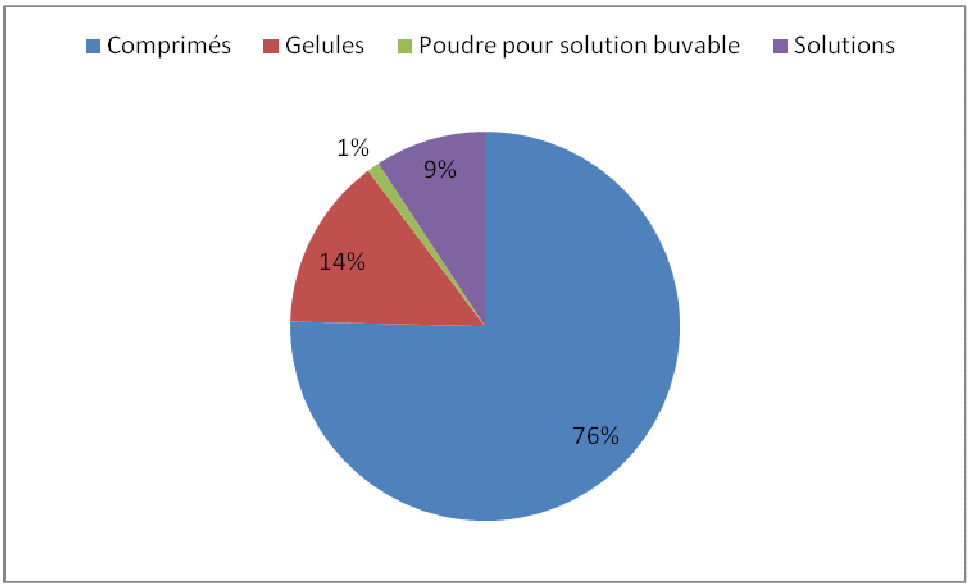
Tous les échantillons analysés ont été fabriqués majoritairement en Inde (97,44%) et en France (2,56%).

Tableau IX. Répartition des échantillons analyses selon la provenance.

PROVENANCE	NOMBRE	POURCENTAGE
PPM	103	52,82
HCNLS	52	26,67
Missions LNS	40	20,51
TOTAL	**195**	**100**

La majorité (52,82%) des échantillons analysés provenait de la PPM.

Répartition des échantillons analysés selon la forme galénique.



Graphique 5 : Répartition des échantillons analysés selon la forme galénique.

Les comprimés ont été la forme galénique la plus analysée soit 75,38%.

Tableau X. Répartition des échantillons analysés selon les principes actifs.

PRINCIPE ACTIF	NOMBRE	POURCENTAGE
Lamivudine+Stavudine+Névirapine	29	14,87
Efavirenz	23	11,79
Lamivudine+Zidovudine+Névirapine	23	11,79
Névirapine	20	10,26
Lamivudine+Zidovudine	19	9,74
Lamivudine	17	8,72
Didanosine	14	7,18
Lamivudine+Stavudine	14	7,18
Abacavir	13	6,67
Stavudine	12	6,15
Zidovudine	9	4,62
Indinavir	1	0,51
Abacavir+Lamivudine+Zidovudine	1	0,51
TOTAL	**195**	**100**

La combinaison thérapeutique (lamivudine/stavudine/névirapine) a été la plus analysée avec 14,87%

Tableau XI. Répartition des échantillons analysés selon le type d'équipement de dosage au LNS.

TYPE D'EQUIPEMENT	NOMBRE	POURCENTAGE
Spectrophotomètre	109	55,90
HPLC	86	44,10
TOTAL	**195**	**100**

La majorité des échantillons a été analysée avec le spectrophotomètre uv-visible soit 55,9%.

Tableau XII .Répartition des échantillons analysés suivant la conformité

Principe Actif	**Forme Galénique**	**Dosage et nombre d'échantillon**	**Conforme**	**Non Conforme**
Abacavir	Comprimé	300mg :**11**	11	0
	Solution	20mg/ml : **2**	2	0
Abacavir/Lamivudine/Zidovudine	Comprimé	300mg/150mg/300mg :**1**	1	0
Didanosine	Comprimé	100mg :**3**	3	0
		50mg :**3**	3	0
	Gélule	250mg :**8**	8	0
Efavirenz	Comprimé	600mg :**16**	16	0
	Gélule	50mg :**3**	3	0
		200mg :**4**	4	0
Indinavir	gélule	400mg :**1**	1	0
Lamivudine	Comprimé	150mg :**9**	9	0
	Solution	50mg/5ml :**8**	8	0
Lamivudine/Stavudine	Comprimé	150mg/30mg :**12**	11	1
		60mg/12mg :**1**	1	0
		30mg/6mg :**1**	1	0
Lamivudine/Stavudine/ Névirapine	Comprimé	150mg/30mg/200mg :**19**	19	0
		60mg/12mg/100mg :**3**	3	0
		30mg/6mg/50mg :**7**	7	0
Lamivudine/Zidovudine	Comprimé	150mg/300mg :**19**	19	0
Lamivudine/Zidovudine/ Névirapine	Comprimé	150mg/300mg/200mg :**21**	21	0
		30mg/60mg/50mg :**2**	2	0
Névirapine	Comprimé	200mg :**16**	16	0
	Solution	50mg/5ml :**4**	4	0
Stavudine	Gélule	30mg :**6**	6	0
		20mg :**3**	3	0
		15mg :**1**	1	0
	Poudre pr Sol	1mg/ml : **2**	2	0
Zidovudine	Comprimé	300mg :**3**	3	0
	Gélule	100mg :**2**	2	0
	Solution	50mg/5ml :**4**	4	0
Total		**195**	**194**	**1**
Pourcentage			**99,49**	**0,51**

Sur 195 échantillons d'ARV analysés de janvier 2009 en décembre 2010, 194 étaient conformes soit 99,49% et 1 non-conforme soit 0,51%.

Tableau XIII. Répartition des échantillons analysés selon le motif de Non-conformité.

Motif de Non-conformité					
Désignation	Désagrégation	Sous-Dosage	Surdosage	Identification	Total
Didanosine	0	0	0	0	0
Efavirenz	0	0	0	0	0
Indinavir	0	0	0	0	0
Lamivudine	0	0	0	0	0
Lamivudine+Stavudine	0	1	0	0	1
Lamivudine+Stavudine+Nevirapine	0	0	0	0	0
Lamivudine+Zidovudine	0	0	0	0	0
Lamivudine+Zidovudine+Nevirapine	0	0	0	0	0
Nevirapine	0	0	0	0	0
Stavudine	0	0	0	0	0
Sulfate d'Abacavir	0	0	0	0	0
Sulfate d'Abacavir+Lamivudine+Zidovudine	0	0	0	0	0
Zidovudine	0	0	0	0	0
Total %	0 0	1 100	0 0	0 0	1 100

La combinaison lamivudine/stavudine dosé à 150mg/30mg en comprimé fabriquée par cipla en provenance du HCNLS était le seul échantillon non-conforme avec comme motif le sous-dosage en lamivudine (85,92%) dont la norme est de 90 à 110%.

IV. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

1- Limites de l'étude

Notre étude a porté sur tous les échantillons d'ARV réceptionnés et tous les échantillons d'ARV analysés de janvier 2009 à décembre 2010 conformément au programme d'activité du LNS.

2- METHODES D'ANALYSE

Les différentes méthodes utilisées au cours de notre étude ont été la spectrophotométrie UV-Visible et la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).

Ces deux méthodes nous ont permis d'identifier et de doser nos molécules.

2. 1- Spectrophotométrie UV-Visible.

C'est une méthode analytique qualitative et quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Elle demande beaucoup d'attention dans les dilutions et les pipetages. Les solutions sont préparées en double. La cuve doit être bien nettoyée afin que la loi de Beer Lambert soit validée c'est-à-dire :

- Une lumière monochromatique ;
- Une faible concentration de solution ;
- Une solution limpide ;
- Des molécules stables en solution et sous l'effet de l'irradiation.

2. 2- Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).

C'est une méthode analytique qualitative et quantitative basée sur la séparation de composé dans un liquide. Elle est beaucoup plus précise et fiable que la spectrophotométrie UV-Visible.

3- RESULTATS

De janvier 2009 à décembre 2010, 195 échantillons ont été analysés sur les 359 reçu soit 54,32%, 1 était non-conforme soit un taux de 0,51%.

86 molécules ont été dosé par CLHP sur 189 reçus soit 45,50% et 109 par spectrophotométrie UV-Visible sur 170 reçus soit 64,12%.

Toutes les formes galéniques reçus à savoir : comprimés ; gélules ; poudres pour suspension et solution ont été analysé. La forme comprimé a été la plus analysée avec 147 soit 75,38%.

Toutes les molécules reçus n'ont pas été analysés :

- Ont été analysé les molécules suivantes : Didanosine ; Efavirenz ; Indinavir ; Lamivudine ; Lamivudine+Stavudine ; Lamivudine+Stavudine+Névirapine ; Lamivudine+Zidovudine ; Lamivudine+Zidovudine+Névirapine ; Névirapine ; Stavudine ; Sulfate d'Abacavir ; Sulfate d'Abacavir+ Lamivudine+Zidovudine et Zidovudine.

La combinaison thérapeutique (Lamivudine+Stavudine+Névirapine) a été la plus analysée 29 soit 14,87%.

- Lopinavir+Ritonavir ; Ténofovir disoproxil fumarate ; Ténofovir disoproxil fumarate+Lamivudine ; Ténofovir disoproxil fumarate +Emtricitabine ; Ténofovir disoproxil fumarate +Emtricitabine+Efavirenz n'ont pas été analysés pour motif la non disposition de protocole d'analyse pour ces molécules.

Les laboratoires fabricants dont leurs molécules n'ont pas été analysées étaient : ABBOTT Laboratories au USA (Lopinavir+Ritonavir n=1) ; ABBOTT Labs au Royaume Uni (Lopinavir+Ritonavir n=6) ; Merck Sharp et Dohme en Hollande (Efavirenz n=3) et Roxane Labs au USA (Névirapine n=2).

Les laboratoires ayant fabriqué les molécules analysés étaient : Aurobindo pharma ; Bristol Myers Squibb ; Cipla ; Hetero Drugs Limited ; Matrix Laboratories et

Strides Arcolab. Le laboratoire Cipla en a fabriqué plus de la moitié des échantillons analysés 113 soit 57,95%.

Les échantillons reçus étaient en provenance du HCNLS ; les missions du LNS ; la PPM et le Laborex. Seules les 10 molécules en provenance du Laborex n'ont pas été analysées.

Le HCNLS ; les missions du LNS et la PPM ont été les sources de provenance des molécules analysées avec 103 pour la PPM soit 52,82%.

Au cours de notre étude, la seule molécule non-conforme a été une combinaison thérapeutique Lamivudine 150mg + Stavudine 30 mg en forme comprimé, fabrique en Inde par le laboratoire Cipla en provenance du HCNLS avec comme motif le sous-dosage en Lamivudine seule (85,92%) dont la norme est de 90 à 110%.

Les résultats obtenus dans cette étude sont presque identiques sur le plan des molécules analysées à ceux d'une étude de l'OMS réalisée dans sept (07) pays africains à savoir : Cameroun ; République Démocratique du Congo ; Kenya ; Nigeria ; Ouganda ; Tanzanie et Zambie [44].

L'OMS [44] retrouve que le taux global de non conformité était de 1,8% sur 394 échantillons analysés.
Ce résultat n'est pas identique a notre étude dans la quelle, 1 cas de non conformité sur 195 échantillons testés soit 0,51%.

Nous n'avons pas décelé au cours de notre étude les cas suivants :

- l'absence de principe actif ;
- le surdosage ;
- l'absence d'uniformité de masse ;
- les signes extérieurs de dégradation ;
- la détérioration de caractères organoleptique

V. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

1 – Conclusion :

Au terme de notre étude, nous pouvons dire que les ARV utilisés au Mali sont de bonne qualité.

En deux ans, le LNS a reçu 359 échantillons et en a analysé 195 soit 54,32%.
Sur les 195 échantillons analysés, 194 étaient conforme soit 99,49% et 1 était non-conforme soit 0,51%.
Un seul cas de non-conformité : la seule molécule non-conforme a été une combinaison thérapeutique Lamivudine 150mg + Stavudine 30 mg en forme comprimé, fabrique en Inde par le laboratoire Cipla en provenance du HCNLS avec comme motif le sous-dosage en Lamivudine seule (85,92%) dont la norme est de 90 à 110%.Elle est due probablement à un défaut de fabrication.

La forme comprimé a été la forme galénique la plus analysée et on note une faible utilisation de la CLHP 45,50% au profit du Spectrophotomètre uv-visible 64,12% qui est moins précis et moins fiable comparativement à la CLHP.

Quelques principes actifs n'ont pas pu être analyses par manque de protocole d'analyse. Il s'agit de : Lopinavir+Ritonavir ; Ténofovir disoproxil fumarate ; Ténofovir disoproxil fumarate+Lamivudine ; Ténofovir disoproxil fumarate +Emtricitabine et Ténofovir disoproxil fumarate +Emtricitabine+Efavirenz.

L'Inde est le principal pays fabricant ces ARVs avec 95,26% des échantillons reçus contre 97,4% des molécules analysées.
Les laboratoires fabricants ces ARVs font preuve de des bonnes pratiques de fabrication au regard des paramètres évalués.

Face à ce constat, nous formulons les recommandations suivantes :

2 – Recommandations :

Au Laboratoire National de la Santé.

- Faire la mise au point de protocoles d'analyse des ARV qui n'en ont pas.
- Veiller à l'application des bonnes pratiques de laboratoire.
- Prioriser l'utilisation de la CLHP pour le dosage.
- Promouvoir la manipulation de la chaine CLHP.
- Mettre en œuvre les recommandations des formations effectuées à l'étranger.

VI. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] OMS, ONU/SIDA, UNICEF

VERS UN ACCES UNIVERSEL ; étendre les interventions prioritaires liées au VIH/sida dans le secteur de la sante. Rapport de situation 2010

[2] http://undp.org.ml consulté le 11 janvier 2011

[3] : Coulibaly Souleymane

La tolérance clinique et biologique de la névirapine chez les malades du SIDA sous traitement à l'hôpital national du point G.

Thèse pharm , Bamako, 06-P-66

[4] Barbereau S. La contrefaçon des médicaments : un phénomène en pleine expansion. *Med Trop* 2006 ; 66 : 529-32.

[5] TRAORE Abdoulaye Sayon

Mise au point de méthodes d'identification et de dosage des médicaments antirétroviraux utilisés au Mali. 05-P-61

[6] File://F:/Virus de l'immunodéficience humains Wikipédia.htm

http://fr.wikipedia.org/wiki/Virus_de_l'immunod%C3%A9ficience_humaine

Consulté le 16 février 2011

[7] Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH

Edition spéciale « AIDS 2010 (Vienne, 18-23 juillet 2010) »

[8] Enquête démographique et de santé Mali (EDSM IV 2006 et EDSMIII)

[9] Dr Comba Touré-Kane

Atelier AAVP : Séquençage-caractérisation moléculaire.

Dakar (Senegal): 2007.

[10] COULIBALY Bréma

Suivi du bilan biologique chez les personnes vivant avec le VIH et le SIDA sous traitement antirétroviral (ARV) au CESAC de Bamako du 1er janvier 2009 au 31 janvier 2010.

[11] DIOUF.A ; AVRIL A ; CISSE ML ;BOUAICHA JC ;SOW ;CISSE G

Prévention de la transmission mère enfant du VIH en milieu Hospitalier à Dakar (Sénégal) Sa go:2005.

[12] Lekkerkerker AN, van Kooyk Y, Geijtenbeek TB. Viral piracy: HIV-1 targets dendritic cells for transmission. Curr HIV Rev 2006; 4: 169-76.

[13] Goff SP

Genetic control of retrovirus susceptibility in mammalian cells. Annu Rev Genet 2004; 38:61-85.

[14] Levy JA.

Acute HIV infection and cells susceptible to HIV infection. In: Levy JA, ed. HIV and the pathologenesis of AIDS. 2nd ed. Washinhington DC: ASM Press; 1998:75-96.

[15] Dormont J S Groupe d'experts

Nouveaux antirétroviraux et hydroxyurée, une stratégie d'utilisation d'antirétroviraux dans l'infection par le VIH

Rapport 1998, Ministère de l'emploi et de la solidarité, Paris Flammation, 1998 ; P 37-41.

[16] Siby M :

« Suivi de l'observance des patients sous antirétroviraux au service de Médecine du CHU Gabriel Touré

Thèse pharm. Bamako, 2006, p2 ; 06-p-37

[17] Nielsen MH, Pedersen FS, Kjerns j. Molecular strategies to inhibit HIV-1 replication. Retrovirology 2005; 2:10.

[18] http://www.greenfacts.org/fr/glossaire/mno/onusida.htm

Consulté le 16 février 2011

[19] ASSA KOFFI ERIC

Dispensation des antirétroviraux en Afrique : L'expérience Ivoirienne 05P62

[20] Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH ; Pharmacologie des Antirétroviraux.

Edition spéciale « AIDS 2010 (Vienne, 18-23 juillet 2010) »

[21] Katlama C ; Tubliana R Les traitement antirétroviraux : bilan de stratégies et indications thérapeutiques 2000 :23-37.

[**22] J.-M.Dariosecq, A.-M.Taburet, P.-M. Girard**

Service des Maladies infectieuses et tropicales Hôpital St. Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris : Pharmacie, Hôpital Bicêtre Mémento thérapeutique 2007.

[23] OMS/ONUSIDA

Module d'information n°1: présentation des traitements antirétroviraux Genève, 1998.12.

[24] COULIBALY Bréma

Suivi du bilan biologique chez les personnes vivant avec le VIH et le SIDA sous traitement antirétroviral (ARV) au CESAC de Bamako du 1er janvier 2009 au 31 janvier 2010.

[25] Présidence de la République

Décret n° 95-009/PRM du 11 janvier 1995.

[26] OUMAROU Garba Mamata

Contrôle de qualité de certains antiparasitaires (Métronidazole, Mébendazole, Niclosamide, Praziquantel) au Laboratoire National de la Santé.

Thèse pharmacie Bamako, 2003, 77 pages n°42.

[**27] Pharmacopée internationale**.

Epreuves, méthodes et normes générales

Normes de qualité pour les substances, excipients et préparations pharmaceutiques.

3ème édition, Volume 4, OMS GENEVE 1994.

[28] ReMeD n°21

Enregistrement des médicaments essentiels génériques ; Mai 1999, 16 pages.

[29] ReMeD n°17

Qualité des médicaments en Afrique, avril 1997.

[30] DEMBELE S. O.

Problématique de la qualité des médicaments au Mali : cas de l'ibuprofen.

Thèse Pharmacie : Bamako, 1998 ; 95 pages n°23.

[31] Assurer la qualité des médicaments dans les échanges internationaux.

Rapport d'un colloque organisé par la fédération internationale de l'industrie du médicament (FILM) avec le bureau régional Africain de l'OMS (OMS-Afro) du 03 au 05 décembre 1990 à Lomé au Togo.

[32] Pharmacopée européenne addendum, 2001.

[33] Tandia Mahamadou

Contrôle de la qualité des formes galéniques solides destinées à la voie orale au LNS. Thèse pharmacie, BKO 2002 ,109 pages, N° 13.

[34] COULIBALY Ousmane Bakary

Contrôle de qualité de deux antipaludiques : la chloroquine et l'association sulfadoxine/pyriméthamine au Laboratoire National de la Santé.

Thèse pharmacie Bamako, 2002, 79 pages n°18.

[35] OMS

Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques : Recueil de directives et autres documents ; Volume 1 ; GENEVE 1998.

[36] Pharmacopée Internationale

Méthode générale d'analyse 3eme édition Volume 1. OMS Genève, 1980

[**37] Pharmacopée européenne** addendum 4.2 ; 07/2002.

[38] Pharmacopée internationale

Normes de qualité, 3ème édition, Volume 2, OMS GENEVE 1981

[39] J.Bartos. M. Perez

Pratiques de l'analyse organique colorimétrique et fluorimétrique 2ème édition, 1984. p.p 213-218, 398 pages.

[40] http://fr.wikipedia.org/wiki/fichier:spectrophotometer-fr.svg

Consulté le 22 février 2011

[41] Françoise Vincent - Ballereau Luc Le quay, Louis, Gomes, Mavoun, Danielle

Rozel, Anne – Valerie.

Technique simple de contrôle et d'étude de stabilité de médicaments essentiels dans les pays en développement.

[42] http://fr.wikipedia.org/chromatographie-wikipedia

Consulté le 13 Décembre 2010

[43]http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/physique/chim/jumber/hplc/chromatographie_en_phase_liquide_fichiers/hplc.html

Consulté le 14 février 2011

[44] World Health Organization

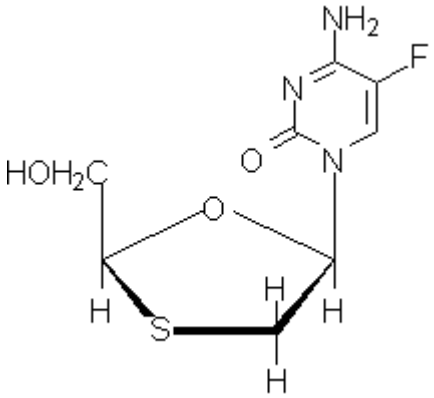
Survey of the quality of antiretroviral medicines circulating in selected African countries; September 2007

ANNEXES

Antirétroviraux du VIH		
Inhibiteurs de la transcriptase inverse	**NRTI - Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse**	**Abacavir** • Adefovir • Didanosine • Emtricitabine • Lamivudine • Stavudine • Zalcitabine • Zidovudine
	NtRTI - Inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse	Ténofovir
	nNRTI - Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse	Éfavirenz • Névirapine • Delavirdine° • Étravirine • *Rilpivirine**
Inhibiteurs de la protéase	Amprenavir • Atazanavir • Darunavir • Indinavir • Lopinavir • Nelfinavir • Saquinavir • Ritonavir • Tipranavir	
Inhibiteurs de fusion	Enfuvirtide *(Fuzeon)* • Maraviroc	
Inhibiteur d'intégrase	Raltégravir • *Elvitégravir** • *MK-2048**	

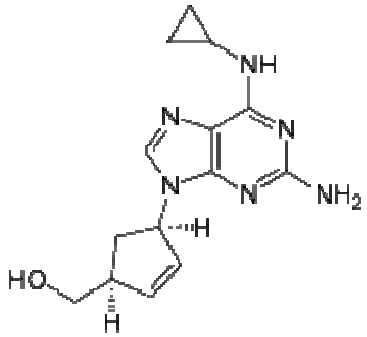
° disponible en ATU uniquement | * *non disponible (à l'étude)* |

Emtricitabine



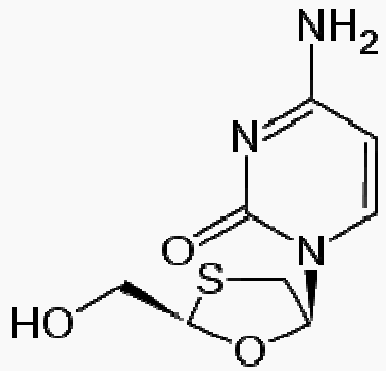
Structure chimique de l'emtricitabine

Abacavir

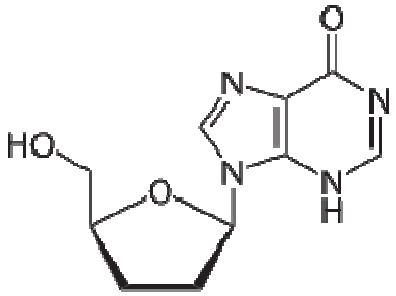


Représentations plane de l'abacavir

Lamivudine

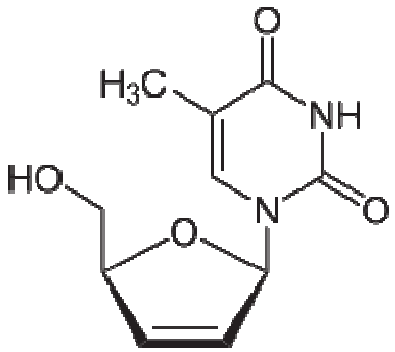


Didanosine



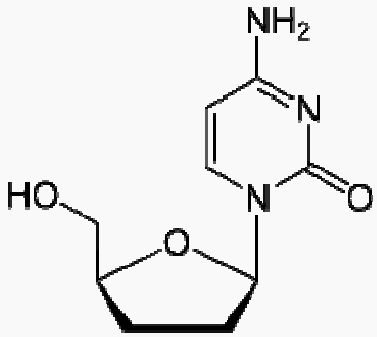
Structure chimique de la didanosine

Stavudine



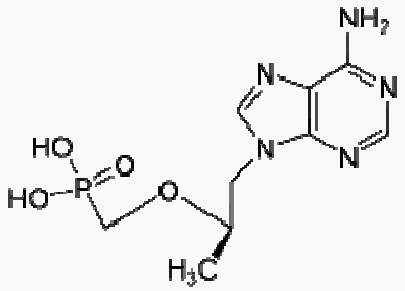
Structure chimique de la didanosine

zalcitabine



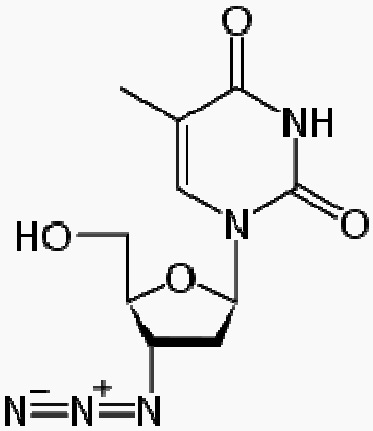
Structure chimique de la zalcitabine

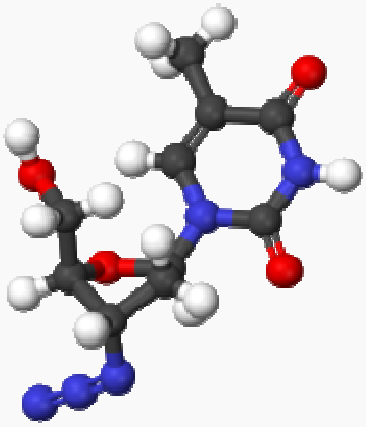
Ténofovir



Structure chimique du ténofovir

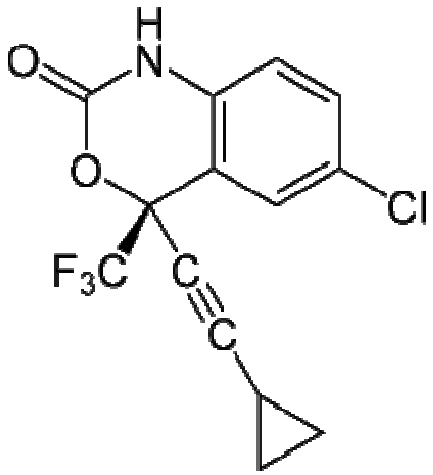
Zidovudine





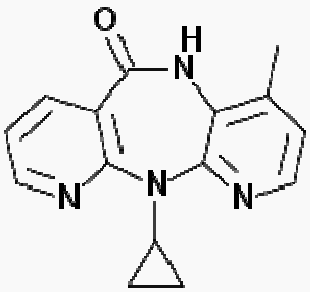
Général

Éfavirenz



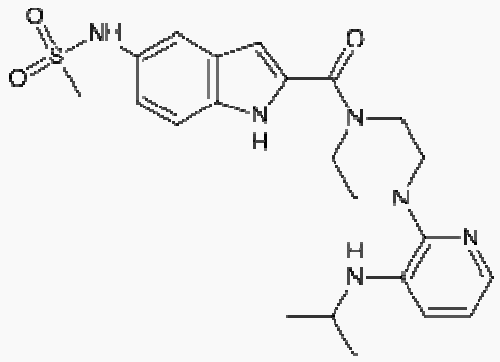
Général

Névirapine



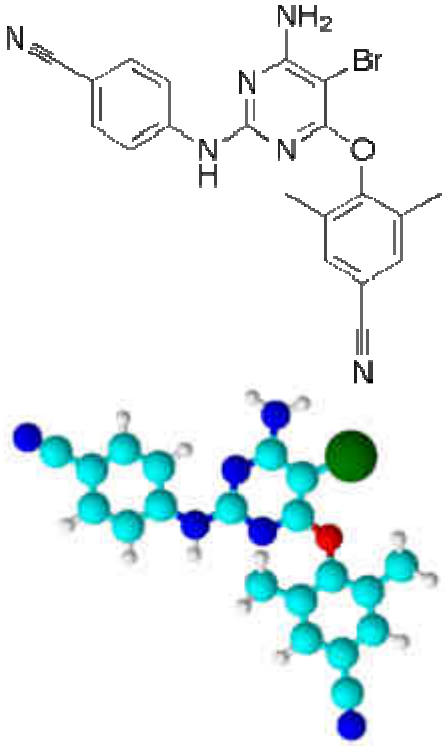
Structure chimique de la névirapine

Delavirdine



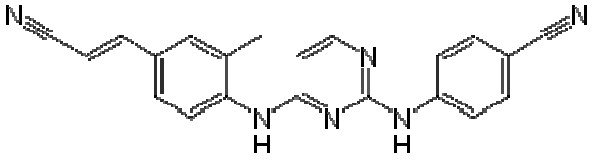
Structure chimique de la Delavirdine

Étravirine

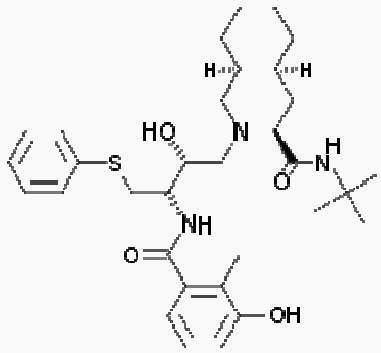


Général

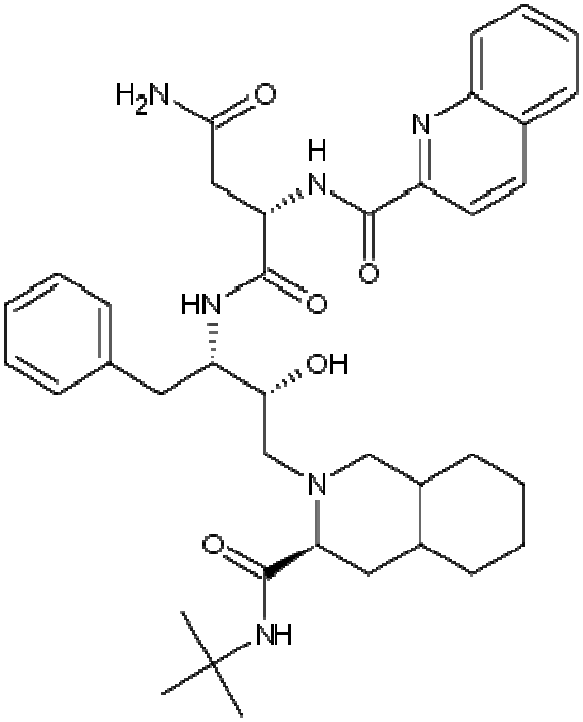
Rilpivirine



Nelfinavir

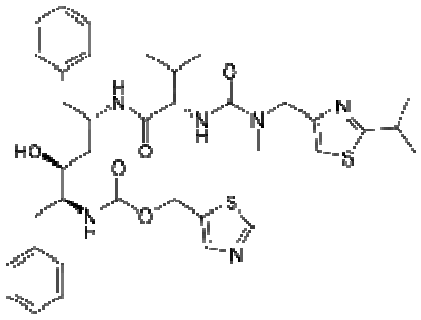


Saquinavir

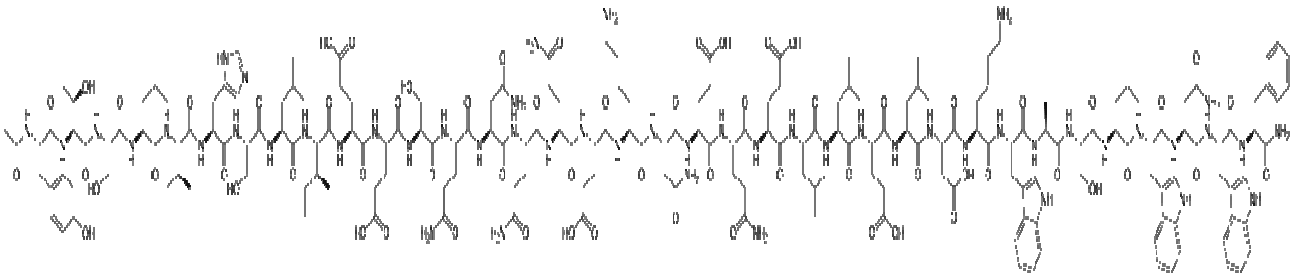


Structure chimique du saquinavir

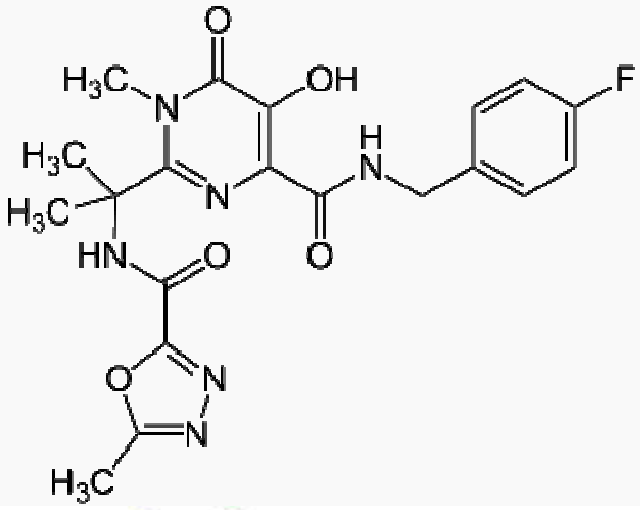
Ritonavir

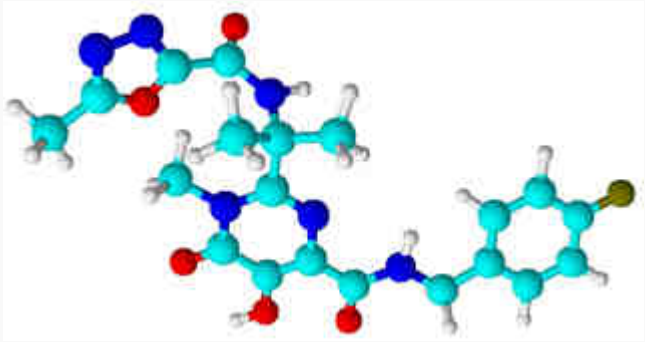


Enfuvirtide



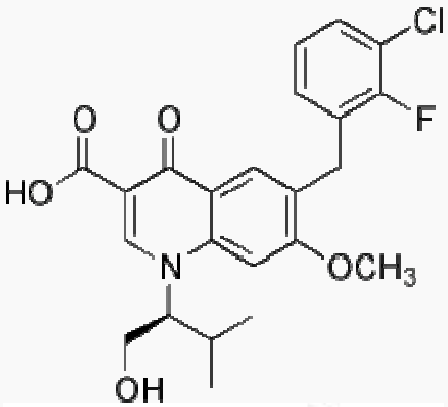
raltégravir





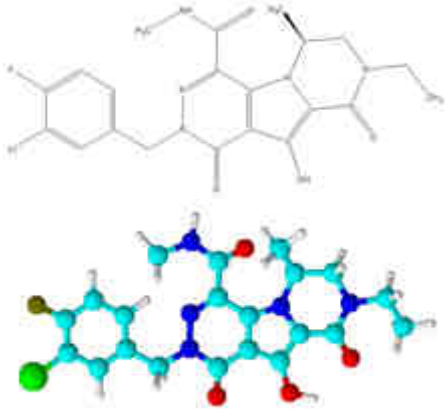
Général

Elvitégravir



Général

MK-2048



Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Discussion

FICHE SIGNALETIQUE

Nom : DIARRA

Prénom : Oumar dit Tièmoko

Titre de la thèse : « Contrôle de qualité des médicaments ARVs au Laboratoire National de la Santé du Mali »

Ville de Soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie.

Résume : Le Laboratoire National de la Santé effectue permanemment des études relatives au contrôle de qualité des médicaments, des eaux et des aliments et boissons.

La présente étude s'inscrit dans le cadre de contrôle de qualité des médicaments ARVs. Il s'agit d'une étude rétroprospective qui s'est réalisée de janvier 2009 à décembre 2010.

L'Objectif général est de contribuer à l'amélioration de la qualité des médicaments ARVs dispensés au Mali.

Sur 359 échantillons reçus, 195 ont été analysés parmi lesquels 1 était non-conforme, soit un taux de 0,51%.

Un seul type de non-conformité : la seule molécule non-conforme a été une combinaison thérapeutique Lamivudine 150mg + Stavudine 30 mg en forme comprimé, fabrique en Inde par le laboratoire Cipla en provenance du HCNLS avec comme motif le sous-dosage en Lamivudine seule (85,92%) dont la norme est [90 - 110].Elle est due probablement à un défaut de fabrication.

La forme comprimé a été la forme galénique la plus analysée et on note une faible utilisation de la CLHP 45,50% au profit du Spectrophotomètre uv-visible 64,12% qui est moins précis et moins fiable comparativement à la CLHP.

Quelques principes actifs n'ont pas pu être analyses par manque de protocole d'analyse. Il s'agit de : Lopinavir+Ritonavir ; Ténofovir disoproxil fumarate ; Ténofovir disoproxil fumarate+Lamivudine ; Ténofovir disoproxil fumarate +Emtricitabine et Ténofovir disoproxil fumarate +Emtricitabine+Efavirenz.

L'Inde est le principal pays fabricant ces ARVs avec 95,26% des échantillons reçus contre 97,4% des molécules analysées.

Secteur d'intérêt : Contrôle de qualité ; médicaments ARVs.

Mots Clés : Contrôle Qualité ; médicament ARVs ; Laboratoire National de la Santé Mali.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maitres de cette 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 engagement ;

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'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

JE LE JURE !