

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

**République du Mali
Un Peuple – Un But – Une Foi**

**UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO
(U.S.T.T.B)**

**FACULTE DE PHARMACIE
(FAPH)**

Année universitaire 2012-2013

Thèse N° _____/P

Titre :

**Etude rétrospective du Contrôle de qualité des
antirétroviraux au Laboratoire National de la Santé
du Mali (LNS) de 2009 à 2012.**

Présentée et soutenue le...**24/ 12 /2013** devant
la Faculté de Pharmacie pour l'obtention du grade de Docteur en
Pharmacie (Diplôme d'Etat)

Par Mme KONE Adama CAMARA

JURY :

PRESIDENT : Pr. Saïbou MAIGA

MEMBRES : Dr. Abdou DOUMBIA

Dr. Seydou Moussa COULIBALY

DIRECTEUR : Pr. Benoît Yaranga KOUMARE

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES :

A ALLAH

Le Tout Puissant, le Clément, l'Omnipotent, le Souverain du monde que nous adorons et dont nous implorons la très haute bénédiction!

DIEU ! Point de divinité à part Lui, le Vivant, l'Immuable, Ni l'assoupissement, ni le sommeil n'ont de prise sur Lui, celui qui subsiste par Lui-même...Et IL est le Très Haut, le Très Grand (Coran S2/ V255).

Qui a fait que je sois de ce monde, Qui m'a apporté un soutien sans faille et le courage nécessaire pour me permettre de mener à bien mes quotidiens.

A Lui je remets toute mon existence. Ce travail est le fruit de Votre volonté.

A Son prophète MOHAMED (Le premier et Le dernier des prophètes, l'Imam des prophètes salue et paix sur Lui).

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.

Merci est un vain mot pour reconnaître vos investissements à ma personne ; voici aujourd'hui que nos rêves se réalisent.

A mon père :

Homme de principe, travailleur, ce travail est le fruit de l'éducation que j'ai reçu de toi. Tu as toujours œuvré pour que mes frères et moi allions de l'avant. Ton soutien sans faille et ton amour ne m'ont pas fait défaut.

Il est de coutume qu'un père soit fier de son enfant et moi je suis fière d'être ta fille, tu resteras cher père un model pour moi, longue vie à toi je t'aime Papa.

A ma mère

Brave mère, ce travail est le produit de tes douleurs, tes angoisses et tes efforts que tu as consentis tout le long de ma formation en vue de nous assurer une bonne éducation. Tu as toujours cru en moi malgré les embuches sur les quelles je trébuchais. Tu as été présente du

début à la fin de ce travail ; je ne saurais oublier ses peines. Ma mère bien aimée que pourrais-je te dire que tu ne sais pas encore, je t'aime.

A mon mari

Comment pourrais-je te remercier pour ta contribution à ce travail et pour tous les sacrifices que tu as consentis?

Homme de principe, de parole, croyant, soucieux du travail bien fait aux qualités exceptionnelles. Tu m'as épaulé et plus qu'un mari tu as été un ami, un confident, un conseiller, un complice, un frère et un père ; tu m'as permis de croire à la vie, d'aller en avant. Le chemin est long à parcourir j'ose espérer que seule la mort pourrait nous séparer. Que DIEU nous donne longue vie à éduquer nos enfants sur Son chemin.

A mes enfants : MOHAMED LAMINE ET IBRAHIM

Vous êtes le remède de mes maux, ma source de bonheur, l'origine de mon courage, vos regards me font oublier les douleurs de la vie, vos sourires me donnent goût à la vie. J'ai pas été toujours présente à cause des études mais vous étiez et serez dans mon cœur mes chéris. Suivez les traces de votre père et un exemple de vos homonymes.

A mes frères et sœur (Mohamed, Abdoul Rahamane, Harouna, Aminata, Mamadou SY et Koman) : Vous m'avez reconnu, accepté et aimé sans condition comme sœur, que puis-je désirer de plus, seul DIEU peut vous récompenser. Vous avez été plus que des frères, vous êtes mon ange gardien et toi ma lagaré tu as été une amie, une conseillère une tante une fille et une mère pour moi et mes enfants. Ce travail est le résultat de nos efforts à nous. Que le Tout Puissant couronne nos entreprises de succès.

REMERCIEMENTS :

A Toute la famille CAMARA

Feu Koma et son épouse feu Assitan cher grand parent j'aurai tellement aimé vous connaître mais on ne peut rien face à la volonté de DIEU ; le fait de ne pas vous connaître à laisser un vide profond en moi.

A mes oncles et leurs épouses : Je ne saurais assez vous remercier.

Feu Hakoye je ne t'ai pas connu, j'aurai tellement aimé vous connaître ainsi que vos frères feux Salif et Moussa.

Feu oncle Mohamed ce jour allait être grandiose avec ta présence mais DIEU en a décidé autrement, merci pour tes bénédictions avant, pendant et après les examens. Cher oncle vous étiez une bibliothèque ; que votre âme repose en paix.

Cher oncle Harouna, vous êtes à l'origine de ce travail merci pour m'avoir mis à l'école, de m'avoir suivi et d'être présent pendant et après les déplacements de mon père, tu as été un second père pour moi. Merci à ta femme de m'avoir donné son nom ; s'il est vrai qu'on hérite les traits de son homonyme, je souhaite hériter de vos caractères de brave femme battante, dévouée pour son mari et ses enfants.

Merci à toi Tonton Djadjé d'être présent pour tout, voilà le fruit de vos bénédictions.

A mes tantes (Fatoumata=Bah, Aminata=Mah et Kadidiatou, Habib, Awa, Mariam=Mamani) et leurs maris ainsi qu'à leurs cousines: veuillez accepter mes sincères remerciements plus que des sœurs vous avez des mères pour mon père et toujours présentes pour nous ; encore merci.

A toute la famille TRAORÉ

Feu Macki TRAORE tu as laissé un vide dans le cœur de tes épouses, enfants et petits enfants mais tu as été et tu resteras toujours un model pour ta descendance.

A mes coépouses Minata Diarra et Bintou Sacko pilier de la famille vous avez toujours su me réconforté ; que DIEU vous donne une longue vie pleine de joie et de santé.

A mes oncles (Lansina, Seydou, Moussa, Mamadou=Mandjine, Boubacar, Bourama, Sidiki, Madane) ainsi qu'à leurs épouses vous avez été pour moi une soutien inestimable, vous avez

toujours cru en moi malgré mon jeune âge ; je ne peux que remercier DIEU de vous avoir comme parent.

Aux amis de mon père recevez mes sentiments les plus respectueux et ma sincère reconnaissance pour votre soutien moral, physique et financier.

Aux amies de ma mère (Alima, Maminè et Sitan) ainsi qu'à leurs maris : vous m'avez accueilli dans vos vies comme votre fille ; merci à vous.

A mes cousins et cousines depuis la famille CAMARA à la famille TRAORÉ, MACALOU, SYLLA, KONATE : Que puisse-je vous dire cher frères et sœurs, rien ne faut une famille unie qui s'aime et dans laquelle il y a l'entraide et j' ai pas manqué de ça avec vous. Vous avez été présents à chaque instant que j'ai eu besoin de vous ; dans mes moments de joie, de tristesse, merci à vous.

A mes nièces et neveux : chers enfants, je vous aime, vous êtes les espoirs de la famille, suivez l'exemple des aînés ; que DIEU vous bénisse.

Mes remerciements les plus sincères à ma belle famille, merci à vous de m'avoir accepté dans votre famille. J'ai appris beaucoup de choses au près de vous, encore merci.

A mes amis(es) et camarades de la promotion Pr SOULEYMANE DIALLO

Etre appelé Docteur en pharmacie n'est pas une tâche facile mais votre compagnie a transformé ceci en miel ; merci et bon vent à nous tous dans cette nouvelle étape de la vie.

A mes amis Fanta, Nafissatou, Mamadou BALLO : J'ai appris tellement de choses avec vous ; je ne cesserais de vous remercier pour ces bons moments passé ensemble et je prie à ce que cette amitié ne s'éteint pas.

Au décanat de la faculté de pharmacie.

A la ligue islamique des élèves et étudiants du Mali (LIEEMA).

A tous les personnels du laboratoire national de la santé, vous avez été d'une aide ci précieuse qui m'a permis de mener à bien ce travail.

A mes grands frères Dr Yaya Diarra, Balla Keita, Gandeca et interne Kossibo merci pour tout, c'est grâce à vous que j'ai pris goût à ce travail.

A la famille **KONE** au **Point-G** : au chef de famille et à toutes les membres de sa famille merci pour votre générosité.

A tous les étudiants de la cour au village merci pour votre aide.

Mes remerciements à tout le personnel de l'officine **DIAN SIDIBÉ**, de l'officine du **FLEUVE**, de l'officine du **Marché DE SÉBÉNICORO**, du laboratoire **BIOTECH**, et au personnel de l'institut géographique du Mali (**IGM**).

Et un remerciement particulier à docteur **KONATE Djibril Tamba** et **Gabriel** qui m'ont surtout aidé à terminer ce travail.

A notre maître et président du Jury:

Professeur Saïbou MAIGA

- ✓ **Professeur de Législation à la Faculté de Pharmacie (FAPH);**
- ✓ **Pharmacien titulaire de l'Officine du Point G ;**
- ✓ **Membre du Comité d'éthique à la Faculté de Pharmacie (FAPH) ;**
- ✓ **Membre du conseil national de l'ordre des pharmaciens du Mali.**

Cher maître,

Nous ne cesserions jamais de vous témoigner notre reconnaissance, non seulement pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail dès son début mais aussi pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Votre simplicité, votre organisation du travail bien fait, vos qualités humaines et la disponibilité dont vous nous avez accordé nous ont fascinés.

Soyez rassuré, cher maître de notre profonde gratitude et notre entière satisfaction.

A notre maître et juge :

Docteur Seydou Moussa COULIBALY

- ✓ **Docteur en pharmacie**
- ✓ **Pharmacien chef de la Pharmacie Hospitalière du Centre Hospitalo-universitaire d'Odontostomatologie (CHUOS),**

Cher maître,

Nous avons été sensibles à la spontanéité par laquelle vous avez daigné de juger ce travail. Nous avons été marqués par vos qualités intellectuelles et sociales, votre démarche scientifique mais aussi par votre rigueur pour le travail bien fait.

Merci d'avoir accepté de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

A notre maître et juge :

Dr Abdou DOUMBIA

- ✓ **Docteur en pharmacie**
- ✓ **Président de l'Ordre des Pharmaciens du Mali.**

Cher maître,

Votre sagesse, vos qualités humaines et votre assiduité dans le travail continueront toujours à nous impressionner et font de vous un maître admiré. Vos critiques et suggestions ont été d'un apport inestimable dans la réalisation de ce document. Veuillez recevoir cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A notre maître et Directeur de thèse :

Professeur Benoît Yaranga KOUMARE

- ✓ **Maître de conférences de chimie analytique à la Faculté de Pharmacie (FAPH);**
- ✓ **Directeur Général du Laboratoire National de la Santé (LNS);**
- ✓ **Spécialiste en Assurance Qualité et Contrôle des médicaments ;**
- ✓ **Expert en Pharmacie galénique/ Analyse des médicaments vétérinaires auprès de l'UEMOA.**

Cher maître,

Permettez moi, tout d'abord très sincèrement de vous exprimer toute ma reconnaissance en vertu de m'avoir reçu à cœur vaillant et d'avoir dirigé ce travail malgré vos multiples occupations. Vos qualités scientifiques et humaines font de vous un encadreur modeste et exemplaire.

Votre dévouement pour le travail bien fait et l'esprit d'équipe qui vous anime sont des valeurs que nous avons su apprécier en vous et nous aideront à affronter la vie active. En espérant que ce travail répondra à vos attentes, soyez rassuré cher Maître, de notre entière disponibilité et recevez l'expression de notre profonde reconnaissance.

ABREVIATIONS

ABC : Abacavir

Ac: Anticorps

ADN: Acide désoxyribonucléique

AIDS: Acquired Immuno-Deficiency Syndrom

ALAT: Alanine amino-transférase

AMM: Autorisation de mise sur le marché

ARN : Acide ribonucléique

ARNm: Acide ribonucléique messenger

ARV : Antirétroviral (aux)

ATV/r : Atazanavir/ ritonavir

AUG: Adenine-Uracile-Guanine

AZT: Azidothymidine

BPF:

CD4: Cluster of difference 4

CF: Confère

CLHP=HPLC:

CRF: circulating recombinant forms

CSRéf: Centre de Santé de Référence

CV : Charge virale

CYP3A4: Cytochrome P450

DDC: Zalcitabine

DDI : Didanosine

DRV/r: Darunavir

D4T : Stavudine

EDS IV:Enquête démographique et de santé
IV

EFV : Efavirenz

ELISA: Enzyme Linked Immuno-Sorbent
Assay

EPST :

ETR: Etravirine

FPV/r: Fosamprénavir

FTC: Emtricitabine

gp: Glycoprotéine

GPHF:

Hb: Hémoglobine

HIV: Human immunodeficiency virus

HTLV: Human T Lymphotropic Virus

IC: Intervalle de confiance

IDV/r: Indinavir

IMAARV: Initiative Malienne d'accès aux
ARV

INNTI : Inhibiteur non nucléosidique de la
transcriptase inverse

INTI : Inhibiteur nucléosidique de la
transcriptase inverse

INRT: inhibiteur nucléosidique de la reverse transcriptase

INNRT: Inhibiteur non nucléosidique de la reverse transcriptase

IP: Inhibiteur de protéase

LMD :

LNS : Laboratoire national de la santé

LPV/r: Lopinavir/ritonavir

MS : Détecteur de type de spectre

NB : Nota bene

NFS: Numération formule sanguine

NVF: Névirapine

OMS: Organisation mondiale de la santé

ONUSIDA: Organisation des nations unies pour la lutte contre le Sida

PCR: Polymerase chain reaction

PIB: Produit intérieur brut

PTME: Prévention de la transmission mère-enfant

PVVIH: Personnes vivant avec le VIH

PEC: Prise en charge

RAL: Raltégravir

RT polymérase: Reverse transférase polymérase

RTV: Ritonavir

SIDA: Syndrome d'immunodéficience acquise

SU: Surface

SQV: Saquinavir

TAR: Traitement antirétroviral (aux)

TCD4: Lymphocyte TCD4

TDF: Ténofovir

TPV: Tipranavir

UAA: Uracile-adénine-adénine

UAG: Uracile-adénine-guanine

UGA: Uracile-guanine-adénine

URF: Unit recombinant forms

USA : Etats unis d'Amérique

UV : Ultra-violet

VIH: Virus d'immunodéficience humaine

VIScpz :

VISgor :

ZDV: Zidovudine

3TC: Lamivudine

%: Pourcentage

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION	1
Objectifs	3
• Objectif général	3
• Objectifs spécifiques	3
II. GENERALITES	4
A. Le virus de l’immunodéficience humaine(VIH)	4
1. Variantes génétiques et origine du VIH	4
2. Epidémiologie de l’infection à VIH	4
3. Structure du VIH	6
4. Organisation génétique du VIH	7
5. Physiopathologie du VIH	8
B. Les antirétroviraux	11
1. Définition	11
2. Pharmacologie des ARV	12
3. Pharmacocinétique des ARV	14
4. Classification	17
C. Traitement antirétroviral	22
1. Objectif.....	22
2. Principes	23
D. Données essentielles sur le médicament et le contrôle de qualité	22
III. METHODOLOGIE	24
IV. RESULTATS	48
V. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	53
VI. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	56
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	58
VIII. ANNEXES	60

I. Introduction

L'infection par le VIH est une priorité de santé voire de développement dans le monde. En effet, depuis le début de la pandémie, le nombre des personnes vivant avec le VIH dans le monde a continué d'augmenter et a atteint un total de 34 millions à la fin de l'année 2011 [1].

Le nombre de personnes (adultes et enfants confondus) infectés par le VIH en 2011 était 20% inférieur à celui enregistré en 2001, mais il reste d'importants défis à relever [1].

L'Afrique subsaharienne reste l'une des régions les plus gravement touchées avec près d'un adulte sur 20 (4,9 %) vivant avec le VIH, ce qui représente 69 % des personnes vivant avec le VIH dans le monde, c'est dans cette région qu'on a enregistré 70% de décès mondiaux dus au sida en 2011[1].

Le Mali, à l'instar des autres pays africains est touché par le VIH, la prévalence y était de **1,2%** selon le résultat de l'EDSM-V en 2013 [2].

Au Mali, le VIH demeure un problème de santé publique à travers son impact sur la mortalité et la morbidité, ses répercussions socio-économiques touchant la population en générale surtout les femmes.

La découverte des médicaments antirétroviraux a suscité un grand espoir [3]. Avec la réduction des coûts des ARV consentis par les firmes pharmaceutiques et l'engagement des plus hautes autorités des pays africains, les initiatives d'accès aux ARV ont vu le jour dans plusieurs pays Africains à partir de 1998. Les ARV améliorent la qualité de vie des patients.

Le gouvernement Malien, à travers l'initiative Malienne d'accès aux ARV (IMAARV) a adopté la gratuité des ARV en Juillet 2004 [44, 45].

Cependant, la réussite du traitement antirétroviral peut dépendre de la qualité des médicaments.

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 [3].

C'est pourquoi il est fondamentale dans tout système de soins de santé, d'assurer la garantie de la qualité des produits pharmaceutiques fabriqués localement ou importés.

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 contrôler les médicaments antirétroviraux [46].

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, ce qui justifie notre étude.

OBJECTIF GENERAL :

Contribuer à l'amélioration de la lutte contre les maladies par le contrôle de la qualité des médicaments.

Objectifs Spécifiques :

- Répertorier les laboratoires fabricants les ARV importés au Mali et leur pays d'origine.
- Etudier la qualité des ARV réceptionnés et analysés au niveau du LNS dans le cadre du contrôle de qualité.

II. GÉNÉRALITÉS

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

1- Variantes génétiques et origines du VIH [4]

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}).

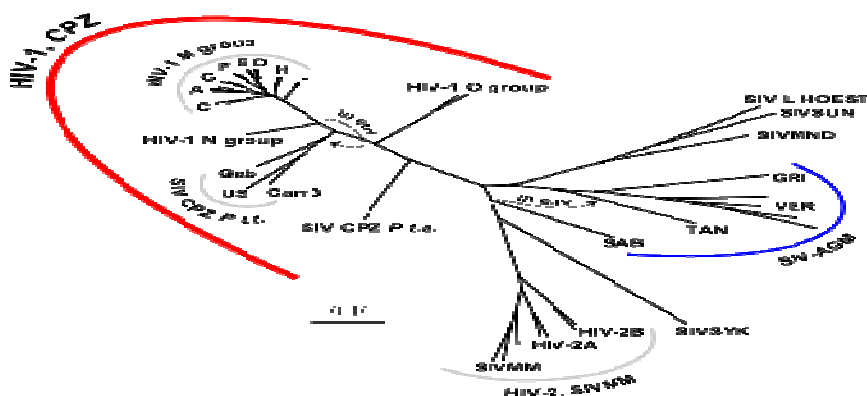


Figure 1 : Arbre phylogénétique du VIH et du VIS [4].

2- Epidémiologie de l'Infection à VIH [5]

- 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 identifié en 2009 [6].

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 [6] ; ils sont de plus en plus fréquemment responsables de nouvelles infections en Europe [7], 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 nécessité 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 VIH1 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 paraît 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 Côte 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.

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).

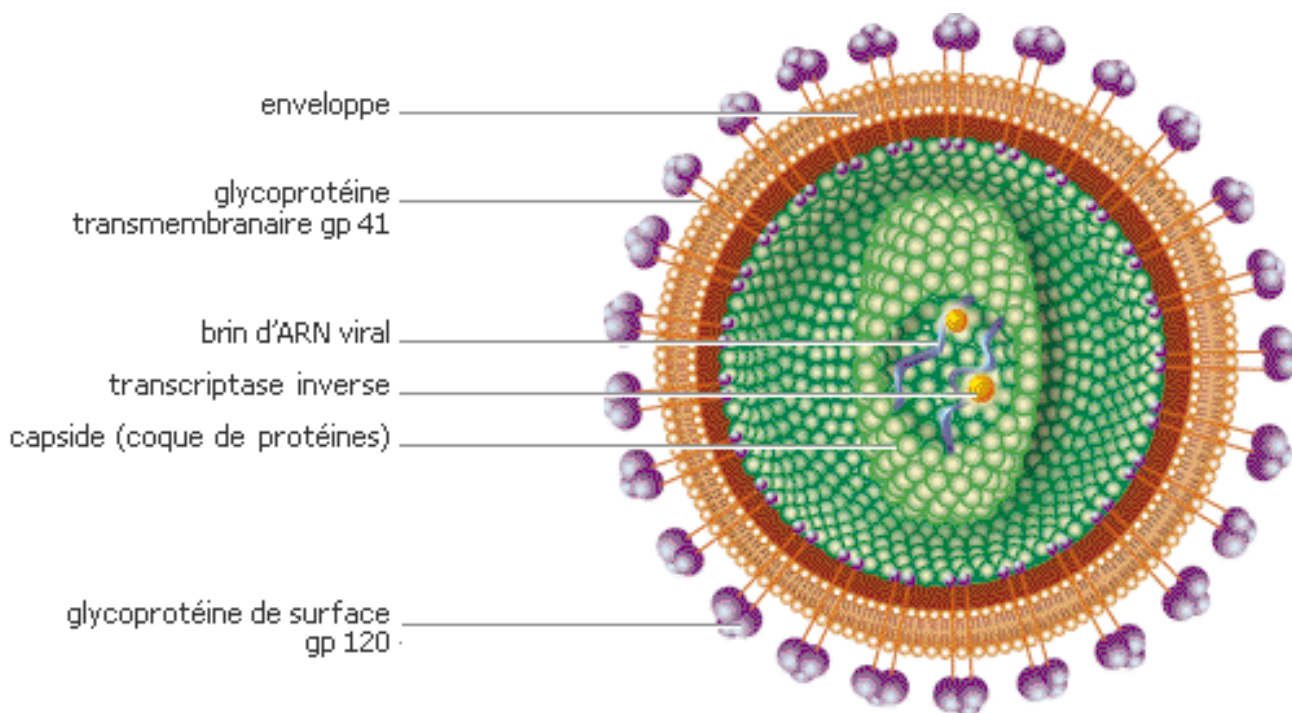


Figure 2 : Structure du Virus HIV [9]

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 capsid, de nucléocapsid 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.

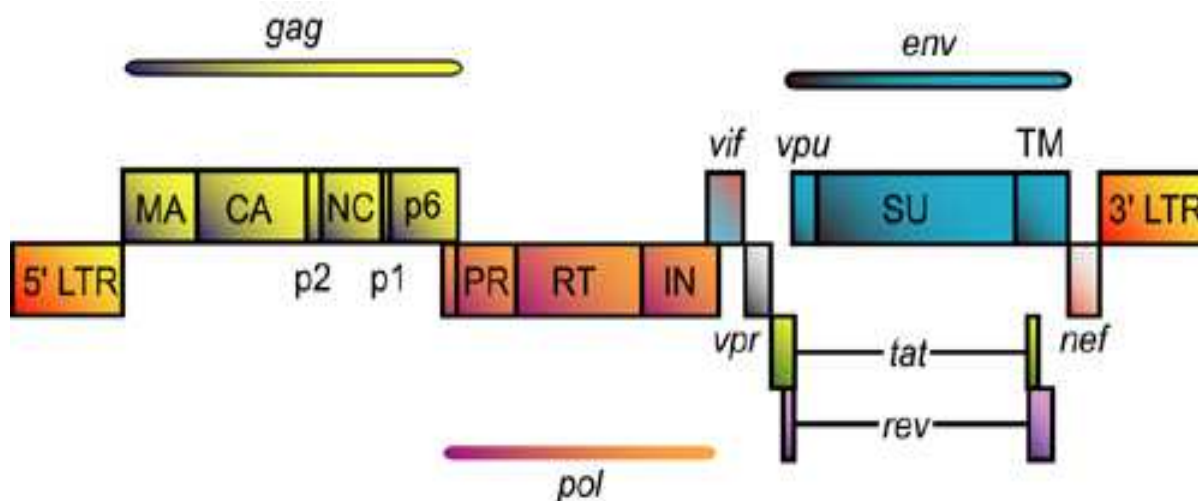


Figure 3 : Représentation schématisée de l'organisation génétique du VIH [10]

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 : [4, 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 répliatif 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 débiter 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 laquelle 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.

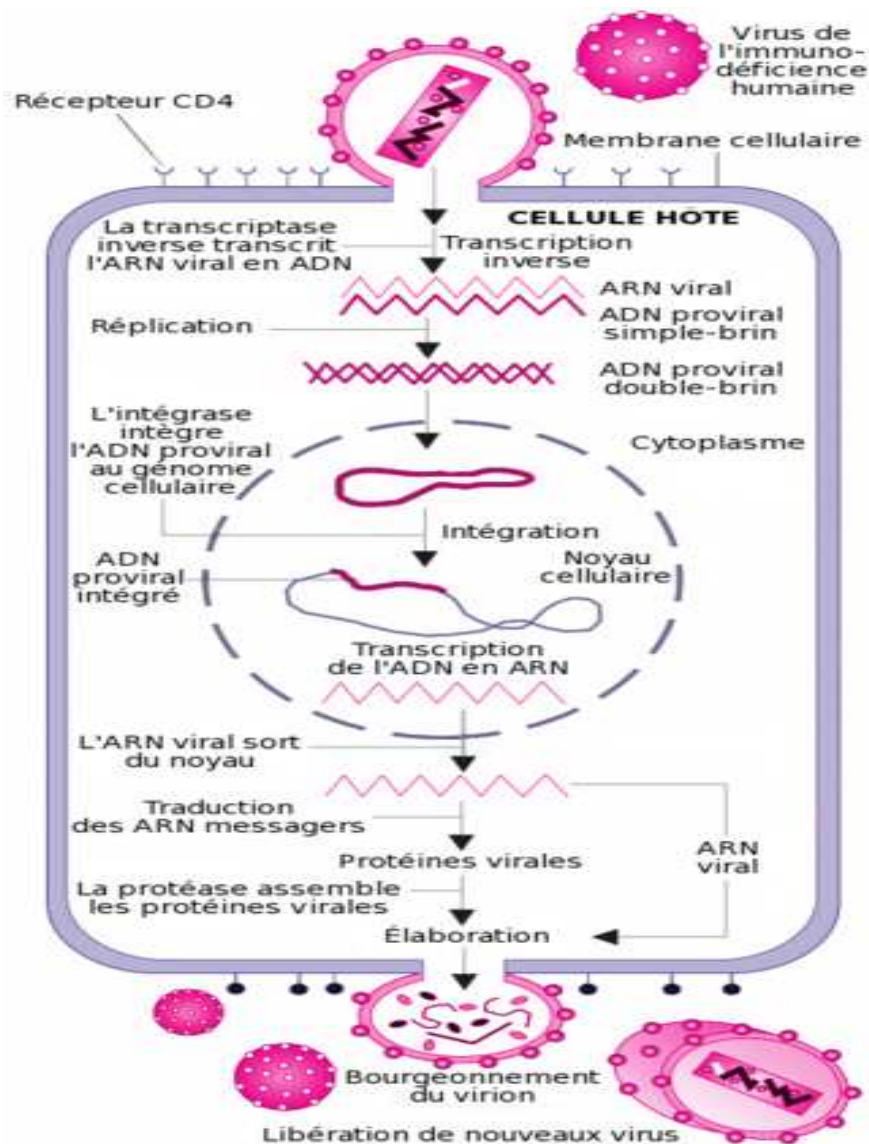


Figure 4 : schéma du cycle de réplication du (VIH) [4]

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].

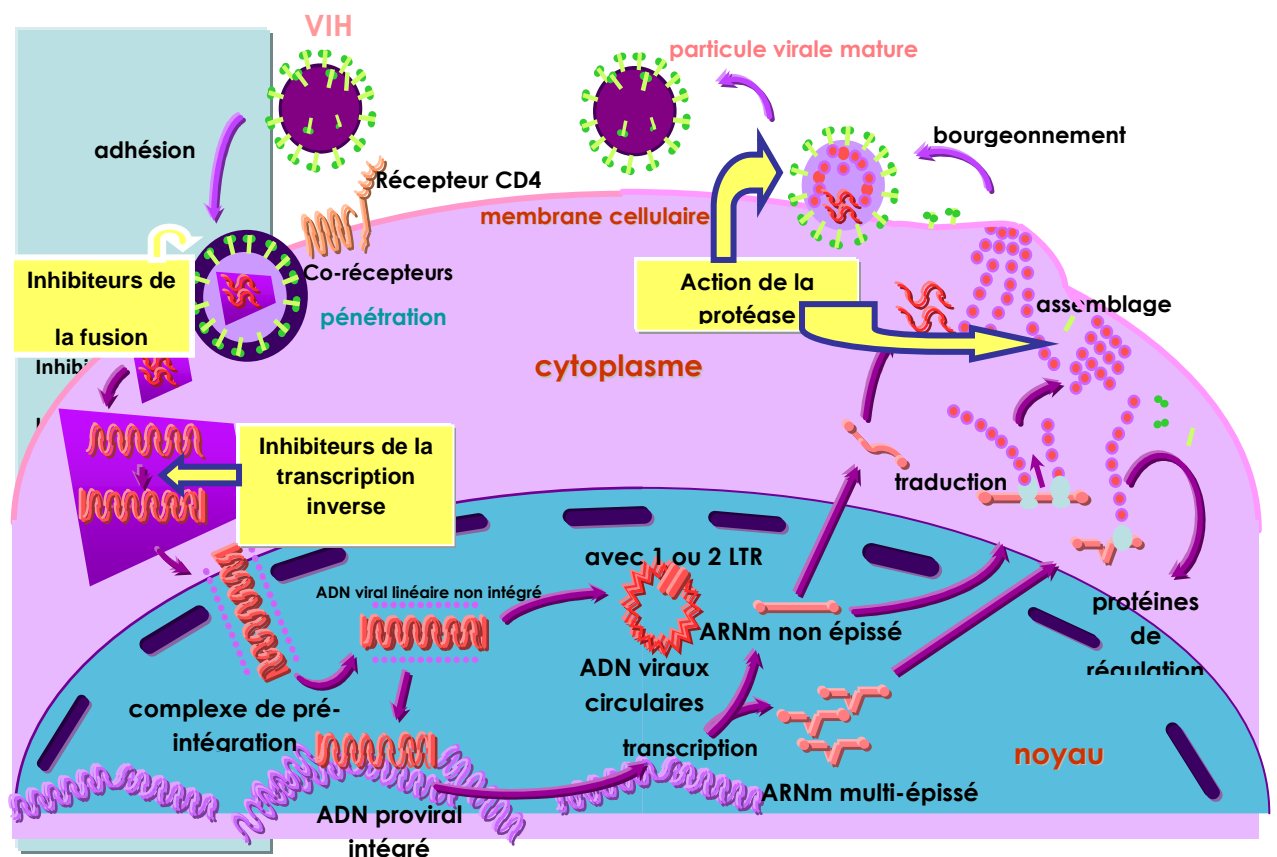


Figure : Schéma de la réplication et cibles d'action des antirétroviraux [43].

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 interférons, 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 Flaçon /240ml
Abacavir	ABC	300mg cp, boîte/60
Abacavir+ Lamivudine+Zidovudine	(ABC+3TC+AZT)	(300+150+300)mg cp, boîte/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 Flaçon / 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 Flaçon/240ml
Lamivudine	3TC	50mg/5ml sol Flaçon/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 Flaçon/60ml
Lopinavir + Ritonavir	(LPV+RTV)	(100 +25)mg cp
Lopinavir + Ritonavir	(LPV+RTV)	(200 +50)mg cp
Névirapine	NVP	50mg/5ml sol Flaçon/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 Boîte/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 Flaçon /200ml
Zidovudine	AZT	100mg Gélule
Zidovudine	AZT	300mg cp, Boîte / 60

3. Pharmacocinétique des antirétroviraux [20]

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

-Les inhibiteurs nucléosidiques ou nucléotidiques(INTI) de la transcriptase inverse

Ils 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 glucurono-conjugués 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 éliminés 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 éliminés 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 glucuronon-conjugaison 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 hépatiques	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

¹F : 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, 23]

Les ARV sont classés suivant leurs sites d'action :

4.1. Les Inhibiteurs Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse

4.1.1. Structures chimiques

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

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 ; boîte de 60 comprimés.

Posologie : 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 ; boîte 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 ; aussi en comprimé contenant de 150mg de 3TC + 200mg de NVP + 40mg de D4T (Mais retiré sur le marché).

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 cutané-muqueux : éruptions cutanées, sécheresse de bouche.

Nausées, vomissement, douleurs abdominales ; hypercholestérolémie (8.5%) et hypertriglycéridémie (8%) avec risque de pancréatite ; élévation 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 : 1 comprimé 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

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 structurales 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

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

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].

4.5.3. 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 $>500/\text{mm}^3$.

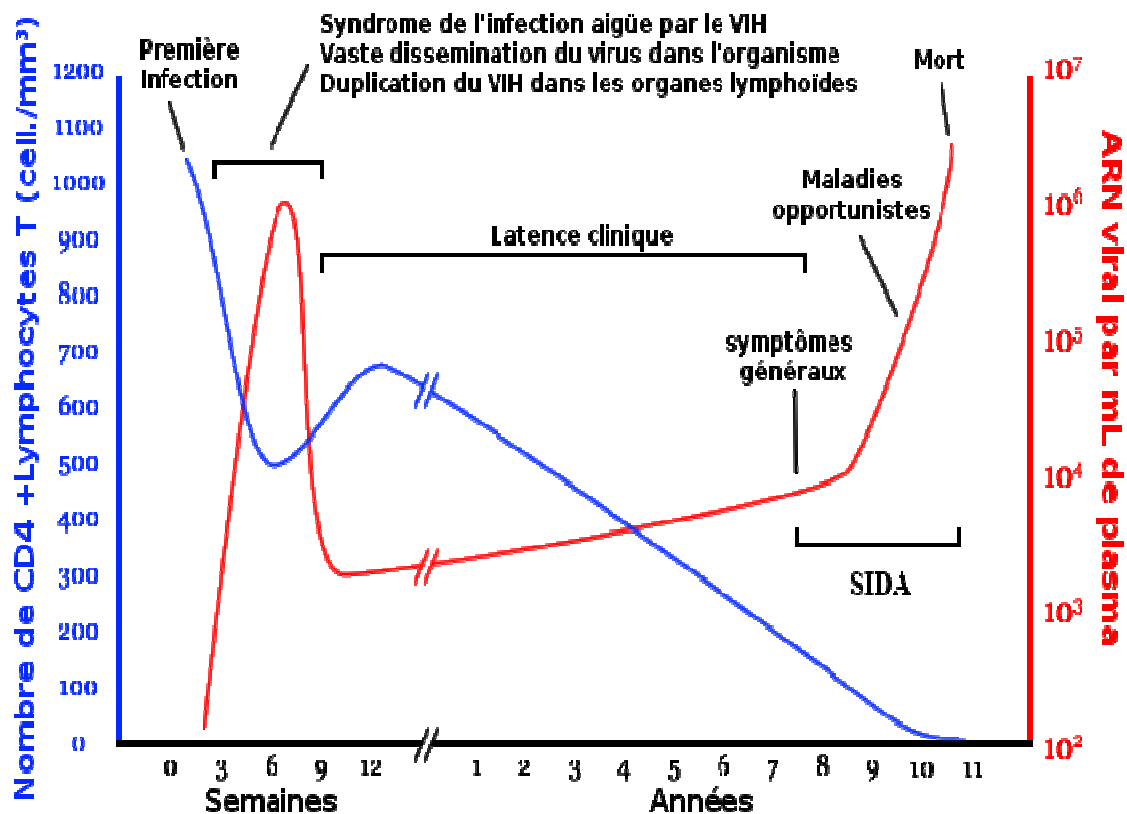
Pour atteindre ce but, le traitement antirétroviral doit rendre la charge virale plasmatique indétectable (<50 copies/ml), ce qui maximalise la restauration immunitaire et minimalise le risque de sélection de virus résistants.

Au plan individuel, si l'efficacité immuno-virologique est l'objectif principal du traitement antirétroviral, d'autres objectifs doivent être recherchés 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 [4].

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.

3. Schémas thérapeutiques [8]

Est considéré comme schéma de première ligne tout schéma de première intention prescrit chez un sujet naïf (exception faite de la PTME) de tout traitement antirétroviral. Toute substitution en cas d'intolérance par exemple est aussi considérée comme un schéma alternatif de première ligne. Est considéré comme schéma de deuxième ligne tout schéma prescrit après échec thérapeutique de 1^{ère} ligne.

3.1- Schémas de première ligne pour les patients infectés par le VIH 1 [8]

Il associe deux inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse (INTI) et un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI).

Les régimes préférentiels en première intention sont les suivants :

Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)

Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)

Ténofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) ou Emtricitabine (FTC) + Efavirenz (EFV)

Ténofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) ou Emtricitabine (FTC) + Névirapine (NVP)

Le régime alternatif suivant est possible :

Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)

3.2 - Prise en charge des patients infectés par le VIH 2 ou co-infection VIH 1-VIH2 (ou patients infectés par le VIH1 du groupe O) [8].

Le choix thérapeutique doit exclure les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse qui ne sont pas efficaces sur le VIH 2 ou sur le VIH1 de groupe O. On utilisera les schémas thérapeutiques associant des inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse à un inhibiteur de protéase boosté (IP-r) ou 3 INTI.

Le traitement préférentiel de première ligne est le suivant :

Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Lopinavir / Ritonavir (LPV/r)

D'autres alternatives thérapeutiques en cas de toxicité, d'intolérance ou d'interaction médicamenteuse sont utilisées.

3.3- Schémas de deuxième ligne [8]

Pour les échecs de 1^{ère} ligne, modifier le traitement dès que possible et passer en 2^{ème} ligne.

Le schéma de 2^e ligne doit inclure au moins 2 nouvelles molécules dont l'une issue d'une famille différente des familles utilisées en première ligne. En cas d'échec thérapeutique confirmé VIH 1 et 2 de la 1^{ère} ligne, le schéma préférentiel de deuxième ligne suivant est recommandé.

2 inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques + 1 inhibiteur de protéase boosté.

Les IP préférentiels sont : Lopinavir-r (LPV-r), Atazanavir-r (ATV-r).

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 : La 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 désigner 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, ouvrir 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	Moins de 300mg	± 10,0	Minimum 18
		± 20,0	Maximum 2

non enrobés et poudre (en unité de prise)	Plus de 300mg	$\pm 7,5$	Minimum 18
		$\pm 15,0$	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. Le coefficient de variation ne doit pas dépasser 5% [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_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution comme :

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

On parle aussi de transmittance définie par la relation :

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

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 :

$$A_\lambda = \epsilon_\lambda l c$$

A_λ 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 $\text{mol}^{-1}.\text{m}^2$) 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 :

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

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.

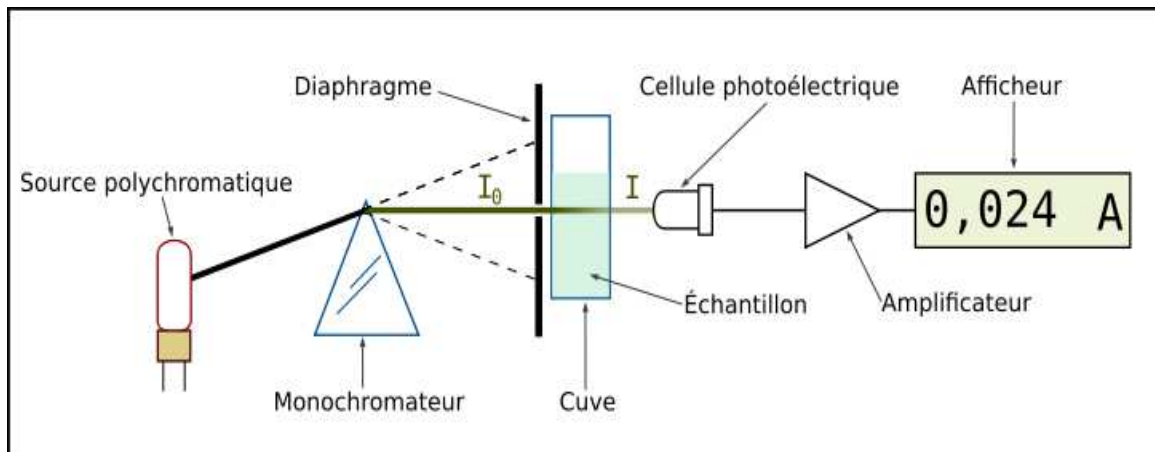


Figure 5 : Schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible monofaisceau

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 $0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ [40].

4. 1. 2 Description du spectrophotomètre

Un spectrophotomètre est composé de trois éléments principaux : Un émetteur, un analyseur et 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.

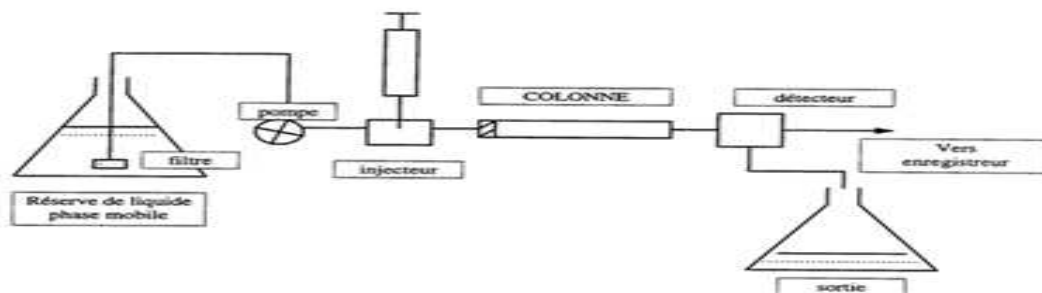


Figure 6: principe de fonctionnement de l'HPLC

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" ($\text{N}(\text{R})_3$) 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 chaînes 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-CH₃), 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 un plus grand gêne stérique, tel que le tert-butyle (Si-O-C(CH₃)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 cm. 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_2O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier.

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

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

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

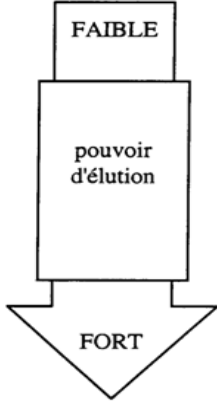

- si la phase stationnaire est très peu polaire, on choisira une phase mobile polaire (le plus souvent des mélanges de méthanol ou d'acétonitrile avec de l'eau), c'est la chromatographie en phase inverse. En modifiant la polarité de la phase mobile, on agit sur les facteurs de rétention k des composés.

Les silices greffées conduisent en général à une perte importante de polarité. Avec une phase greffée, l'ordre d'éluion est opposé à celui auquel on est habitué avec les phases normales.

Ainsi avec un éluant polaire, un composé polaire migre plus vite qu'un composé apolaire. Dans ces conditions les hydrocarbures sont fortement retenus. On réalise des gradients d'éluion 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'éluion).

On peut, en mélangeant plusieurs solvants, ajuster le pouvoir d'éluion de la phase mobile.

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

phase polaire normale	solvants classes par polarité croissante	phase à polarité inversée
	hexane toluène trichlorométhane dichlorométhane éther acétate d'éthyle acétonitrile méthanol eau	

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 ϵ 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.

III. METHODOLOGIE

1. Cadre de l'étude :

Notre étude s'est déroulée au laboratoire national de la santé (LNS) à Bamako (Mali), qui est un Etablissement Public à caractère Scientifique et Technologique (EPST), situé à Darsalam (troisième commune de la ville de Bamako), à l'Ouest du lycée Askia Mohamed.

Selon l'article 2 de l'Ordonnance N°00-40/P-RM du 20 SEP 2000 portant sur sa création, il est chargé de : « contrôler la qualité des médicaments, aliments, boissons ou toutes autres substances importées ou produites en République du Mali et destinées à des fins thérapeutiques, diététiques ou alimentaires en vue de la sauvegarde de la santé des populations humaine et animale ».

Il a été accrédité en microbiologie alimentaire sous le certificat numéro 1-0048 Tunac /ilac-MRA/ISO-CEI le 6 Juin 2013.

2. Type et période d'étude.

Il s'agit d'une étude rétrospective de type transversal sur la qualité des ARV durant une période allant de janvier 2009 à décembre 2012 soit une durée de 48 mois.

3. Echantillonnage.

Notre étude a porté sur tous les médicaments ARV réceptionnés et analysés au Laboratoire National de la santé du Mali de janvier 2009 à décembre 2012.

4. Outils de collecte des données.

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

5. Critères d'inclusion.

Ont été inclus dans notre étude, tous les ARV réceptionnés et analysés au LNS de janvier 2009 à décembre 2012.

6. Critères de non inclusion.

N'ont pas été inclus tous les ARV réceptionnés mais non analysés au LNS de janvier 2009 à décembre 2012.

7. Saisie et traitement des données.

Les données ont été saisies et traitées sur le logiciel Epi-info version 3.5.3 du 26 janvier 2011 ; et le logiciel Word 2003 a été utilisé pour le traitement du texte.

8. Considérations éthiques et déontologiques.

Nous avons élaboré un protocole d'étude qui a été soumis à la Direction du LNS pour validation. 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.

9. TECHNIQUES D'ANALYSE

Les techniques d'analyse seront 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; 3^{ème} edition ;
- ✓ Manuel GPHF ;
- ✓ Les pharmacopées (européenne, américaine et internationale).

Les différentes techniques utilisées vont concerner :

9.1. L'étiquetage

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

9.2. Les caractères visuels

9.3. L'identification

Pour identifier nos molécules, nous allons utiliser :

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

Protocole d'analyse: 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.

9.4. Les essais

Nous allons rechercher :

- le Poids moyen et l'écart type : ils seront 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).

9.5. Le dosage

Pour doser nos molécules, nous allons nous servir :

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

Protocole d'analyse : Clarke's Analysis of Drugs and Poisons ; Volume 2 ; Third edition et les pharmacopées (européenne, américaine et internationale).

- de la **chaîne 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, 5 μ m 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	$\lambda=270$ nm		
Volume d'injection	10 μ l		
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		

10. NORMES DE CONFORMITE

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

IV. RESULTATS

Tableau I: Répartition des ARV en fonction de la forme galénique

<i>Forme galénique</i>	<i>Fréquence absolue</i>	<i>Fréquence relative (%)</i>
Comprimés	290	72,5
Solution buvable	51	12,7
Gélule	47	11,8
Suspension buvable	10	2,5
Capsule	2	0,5
Total	400	100

Les comprimés ont été la forme galénique la plus représentée avec 72,5% des ARV analysés.

Tableau II: Répartition des ARV en fonction des pays fabricants.

<i>Pays fabricants</i>	<i>Fréquence absolue</i>	<i>Fréquence relative (%)</i>
Inde	381	95,3
Royaume Unis	5	1,2
Canada	4	1
France	5	1,2
Hollande	3	0,8
Italie	2	0,5
Total	400	100

La majeure partie des ARV analysés a été exportée de l'Inde avec 95,3%.

Tableau III: Répartition des ARV en fonction des laboratoires fabricants.

<i>Laboratoires fabricants</i>	<i>Fréquence absolue</i>	<i>Fréquence relative (%)</i>
Cipla Labs	178	44,5
Aurobindo	104	26
Matrix LABS	43	10,7
Ranbaxy	27	6,7
Hétérodrugs LTD	12	3
Strides Arcolab	9	2,2
Abbott Lab	5	1,3
Mylan Labo	5	1,3
Bristol MS	5	1,3
Patheon	4	1
Macleods pharm	4	1
Merck sharp et Dohme	3	0,7
Matrix LMD	1	0,3
Total	400	100

Cipla Labs a été le laboratoire fabricant des ARV analysés le plus représenté avec 44,5%.

Tableau IV: Répartition des ARV en fonction de l'année d'analyse.

<i>Année d'analyse</i>	<i>Fréquence absolue</i>	<i>Fréquence relative (%)</i>
2009	81	20,3
2010	119	29,7
2011	90	22,5
2012	110	27,5
Total	400	100

L'année 2010 a été l'année où il y a eu le plus d'analyse des ARV soit 29,7%.

Tableau V: Répartition des ARV en fonction de la conformité.

<i>Conformité des ARV</i>	<i>Fréquence absolue</i>	<i>Fréquence relative (%)</i>
Non conforme	1	0,3
Conforme	399	99,7
Total	400	100

La non-conformité a été observée avec un seul ARV, soit 0,3% des ARV analysés.

Tableau VI: Répartition des ARV en fonction du principe actif.

<i>Principe actif</i>	<i>Fréquence absolue</i>	<i>Fréquence relative (%)</i>
Zidovudine-Lamivudine-Névirapine	80	20
Névirapine	44	11
Efavirenz	42	10,5
Abacavir	37	9,2
Didanosine	37	9,2
Lamivudine	33	8,3
Zidovudine-Lamivudine	30	7,5
Stavudine-Lamivudine-Névirapine	29	7,3
Zidovudine	24	6
Stavudine-Lamivudine	14	3,5
Stavudine	14	3,5
Ritonavir	6	1,5
Zidovudine-Lamivudine-Abacavir	5	1,2
Lopinavir-Ritonavir	2	0,5
Indinavir	2	0,5
Abacavir-Lamivudine	1	0,3
Total	400	100

Le principe actif le plus représenté a été la combinaison thérapeutique Zidovudine-Lamivudine-Névirapine, soit 20%.

Tableau VII : Répartition des laboratoires par rapport aux pays fabricants.

<i>Laboratoires fabricants</i>	<i>Pays fabricants</i>	<i>Fréquence absolue</i>	<i>Fréquence relative (%)</i>
Cipla Labs	Inde	178	44,5
Aurobindo	Inde	104	26
Matrix LABS	Inde	41	10,2
Ranbaxy	Inde	27	6,7
Hétérodrugs LTD	Inde	12	3
Strides Arcolab	Inde	9	2,2
Abbott Lab	Royaume Uni	5	1,3
Mylan Labo	Inde	5	1,3
Bristol MS	France	5	1,3
Patheon	Canada	4	1
Macleods pharm	Inde	4	1
Merck sharp et Dohme	Hollande	3	0,7
Matrix LABS	Italie	2	0,5
Matrix LMD	Inde	1	0,3
Total		400	100

Le laboratoire Indien Cipla Labs a été majoritaire par rapport aux autres laboratoires avec 44,5%.

Tableau VIII: Répartition en fonction du principe actif par rapport à la forme galénique.

<i>Principe actif</i>	<i>Forme galénique</i>	<i>Fréquence absolue</i>	<i>Fréquence relative (%)</i>
Zidovudine-Lamivudine-Névirapine	Comprimé	80	20
Névirapine	Comprimé	28	7
	Solution Buvable	7	1,7
	Suspension buvable	9	2,3
Efavirenz	Comprimé	27	6,7
	Capsule	1	0,3
	Gélule	7	1,7
	Solution buvable	7	1,7
Abacavir	Comprimé	30	7,5
	Solution buvable	7	1,7
Didanosine	Comprimé	13	3,2
	Capsule	1	0,3
	Gélule	23	5,7
Lamivudine	Comprimé	18	4,5
	Gélule	1	0,3
	Solution buvable	14	3,5
Zidovudine-Lamivudine	Comprimé	30	7,5
Stavudine-Lamivudine-Névirapine	Comprimé	29	7,3
Zidovudine	Comprimé	7	1,7
	Gélule	4	1
	Solution buvable	12	3
	Suspension buvable	1	0,3
Stavudine-Lamivudine	Comprimé	14	3,5
Stavudine	Gélule	10	2,5
	Solution buvable	4	1
Ritonavir	Comprimé	6	1,5
Zidovudine-Lamivudine-Abacavir	Comprimé	5	1,3
Lopinavir-Ritonavir	Comprimé	2	0,5
Indinavir	Comprimé	2	0,5
Abacavir-Lamivudine	Comprimé	1	0,3
Total		400	100

La combinaison Zidovudine-Lamivudine-Névirapine en comprimé était la forme galénique la plus analysée avec 20%.

V. COMMENTAIRES ET DISCUSSION :

1. Limites de l'étude :

Notre étude a porté sur tous les échantillons d'ARV analysés de Janvier 2009 à Décembre 2012 conformément au programme d'activité du LNS. Comme tout travail humain, le notre a été confronté à des insuffisances; tous les ARV réceptionnés n'ont pas été analysés, ainsi que des ARV provenant des firmes de certains pays importateurs comme les USA à cause de la non-disponibilité des protocoles d'analyse de ces ARV.

2. Méthodes 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 ont été utilisées pour identifier et doser les 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 composés. Elle est beaucoup plus précise et fiable que la spectrophotométrie UV-Visible.

3. Résultats :

De Janvier 2009 à Décembre 2012, au total 400 échantillons d'ARV ont été analysés. Ces analyses ont été effectuées en tenant compte des années d'analyse de ces ARV, de leurs pays de fabrication, de leurs usines de fabrication, leur conformité par rapport aux normes nationales et internationales, leurs formes galéniques.

Principe actif

Dans notre échantillon, il y avait 16 principes actifs, y compris les combinaisons fixes. Parmi ces molécules, la combinaison Zidiovudine- Lamivudine- Névirapine a été la plus analysée soit **20%**. Cette fréquence pourrait être due à la demande liée à cette molécule ces deux dernières années. Mais ailleurs, l'étude de **DIARRA O.** avait trouvé que la combinaison Lamivudine-Stavudine-Névirapine était la plus analysée avec **14,87%** [24]. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait qu'à l'époque de l'étude de DIARRA, l'association la plus recommandée était la Lamivudine-Stavudine-Névirapine, qui ne l'est plus parce que la Stavudine s'est avérée très toxique et est retirée de la *thérapeutique*.

La forme galénique

Au cours de notre étude, nous avons trouvé 5 formes galéniques qui sont : les comprimés, les solutions buvables, les gélules, les suspensions buvables et les capsules. A savoir que les comprimés sécables, les comprimés dispersibles, les comprimés à croquer ont été enregistrés dans la variable des comprimés.

La forme galénique la plus analysée au cours de cette étude était les comprimés avec **72,5%**. Ceci s'expliquerait au fait que les comprimés sont les plus dispensés aux malades. L'étude de **DIARRA O.** avait trouvé **75,38%** en faveur des comprimés, ce qui reconforte nos résultats [42].

Principes actifs en fonction de la forme galénique :

La combinaison Zidovudine- Lamivudine- Névirapine en comprimé était la plus fréquente avec **20%**.

Pays de fabrication

Les ARV analysés dans notre étude étaient fabriqués par 6 pays (Inde, France, Royaume Uni, Hollande, Italie et Canada). Ainsi, **95,3%** des ARV étaient fabriqués en Inde, l'étude de DIARRA confirme ce chiffre (avec **97,44%**) [24].

Laboratoires fabricants :

Les ARV analysés au cours de cette étude ont été fabriqués par des laboratoires différents (15 laboratoires au total), parmi lesquels le laboratoire Cipla était le plus représenté soit **44,5%**. Ce résultat se rapproche de celui de DIARRA qui a eu **57,95%** pour le même laboratoire [24].

Laboratoires fabricants en fonction des pays de fabrication :

A savoir que beaucoup de laboratoires fabricants pouvaient appartenir à un même pays comme le cas de l'Inde qui en avait 9. Ainsi le laboratoire Cipla de l'Inde a été le plus représenté avec 44,5%, suivi par le laboratoire Aurobindo de l'Inde (26%).

Conformité des ARV analysés :

Notre étude a mis en évidence que **99,7%** des ARV analysés étaient conformes aux normes fixées et que **0,3%** des ARV ne l'était pas, soit 1 cas sur 400 échantillons. Ce taux se rapproche de celui de DIARRA qui avait eu **0,51%** avec 1 cas sur 195 échantillons [24]. Cependant, l'OMS avait trouvé que le taux global de non-conformité était de 1,8% sur 394 échantillons analysés [25].

La molécule qui a été signalée non conforme est une combinaison thérapeutique de Lamivudine 150mg + Stavudine 30mg en comprimé, la firme de fabrication : le laboratoire Cipla, le pays de fabrication : Inde et l'année d'analyse : 2009.

Le motif de non-conformité était le sous-dosage de Lamivudine qui l'était à 85,92% alors que la norme recommandée est de 90 à 110%.

Année d'analyse

Notre série s'est élargie à 4 ans (de 2009 à 2012). La répartition des échantillons sur les 4 années était disproportionnée. L'année 2010 a été l'année où il y a eu le plus d'analyse avec **29,7%**, suivi de l'année 2012 (27,5%).

VI. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

A. Conclusion :

Malgré les avancées qu'ont connues la lutte contre le VIH, ce fléau reste toujours un problème majeur de santé dans le monde.

Les ARV ont été d'un apport capital pour la lutte contre le VIH, en améliorant la qualité de vie des PVVIH. Ailleurs cette avancée a connu des retards à cause des résistances du virus contre ces molécules, d'où l'intérêt de vérifier leur qualité, qui peut être un facteur déterminant de cette résistance.

Ainsi dans notre étude, le nombre d'antirétroviraux répertoriés et analysés étaient de 400 molécules de 2009 à 2012, répartis en 16 principes actifs parmi lesquels la combinaison thérapeutique Zidovudine- Lamivudine- Névirapine a été la plus fréquente avec 20%.

Ces ARV répondaient aux normes de qualité nationales et internationales dans 99,7%, et seulement 0,3% n'y répondait pas. La molécule non conforme était la combinaison thérapeutique Lamivudine- Stavudine, fabriqué par le laboratoire Cipla en Inde, analysé en 2009. Le motif de non-conformité était le sous dosage de Lamivudine.

B. Recommandations :

Aux autorités administratives du LNS

Procéder régulièrement au contrôle de qualité des ARV

Bien archiver les registres et toutes autres informations sur les résultats des analyses du laboratoire.

Former plus d'agents dans la maîtrise des appareils et des techniques de contrôle de qualité des ARV.

Aux laboratoires de fabrication des ARV

Bien doser les ARV afin d'éviter des résistances liées à la mauvaise qualité des ARV.

Fournir les protocoles d'analyse des ARV aux pays acheteurs, afin de leurs permettre de vérifier la qualité de ces molécules.

Aux organisations internationales de lutte contre le sida

Choisir les laboratoires fabricants qui répondent aux normes internationales de fabrication pour l'achat des ARV.

VIII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ONUSIDA/OMS.** Le point sur l'épidémie de SIDA, 2012 ; 96p.
2. **Enquête démographique et de santé du Mali.** Edition V 2012-2013. Rapport préliminaire sur la prévalence du VIH.
3. **Barbereau S.** La contrefaçon des médicaments : un phénomène en pleine expansion. *Med Trop* 2006 ; 66 : 529-32.
4. http://fr.wikipedia.org/wiki/Virus_de_l'immunod%C3%A9ficiency_humaine, Consulté le 16 février 2011.
5. **Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH.** Edition spéciale « AIDS 2010 (Vienne, 18-23 juillet 2010) ».
6. **OMS, ONU/SIDA, UNICEF.** Vers un accès universel ; étendre les interventions prioritaires liées au VIH/sida dans le secteur de la sante. Rapport de situation 2010.
7. <http://undp.org.ml> consulté le 11 janvier 2011.
8. **Ministère de la santé.** Politique et protocole national de prise en charge ARV du VIH et du SIDA. Juin 2010. 83.
9. **Comba Touré-Kane .** Atelier AAVP : Séquençage-caractérisation moléculaire. Dakar (Senegal): 2007.
10. **COULIBALY B.** Suivi du bilan biologique chez les personnes vivant avec le VIH et le SIDA sous traitement antirétroviral (ARV) au CESAC de Bamako du 1^{er} janvier 2009 au 31 janvier 2010.
11. **Diouf A. ; Avril A ; Cissé ML ; Bouaicha JC ; Sow ; Cissé 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 pathogenesis of AIDS. 2nd ed. Washinhhington 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 Flamination, 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; n°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 E.** Dispensation des antirétroviraux en Afrique : L'expérience Ivoirienne. Thèse pharm. Bamako, 2005; n°62
- 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. **DIARRA O .T.** Contrôle de qualité des médicaments antirétroviraux au laboratoire national de la santé du Mali. These pharmacie, Bamako, 2012.
25. **World Health Organization.** Survey of the quality of antiretroviral medicines circulating in selected African countries. *September 2007.*
26. **Oumarou G M.** Contrôle de qualité de certains antiparasitaires (Métronidazole, Mébendazole, Niclosamide, Praziquantel) au Laboratoire National

de la Santé. Thèse pharm. Bamako, 2003 ; 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. Dembélé S. O. Problématique de la qualité des médicaments au Mali : cas de l'ibuprofène. Thèse Pharm, Bamako, 1998 ; 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 M. Contrôle de la qualité des formes galéniques solides destinées à la voie orale au LNS. Thèse pharm, Bamako, 2002 ; n° 13.

34. Coulibaly O B. Contrôle de qualité de deux antipaludiques : la chloroquine et l'association sulfadoxine/pyriméthamine au Laboratoire National de la Santé. Thèse pharm, Bamako, 2002 ; 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. Singlas E et al. Lettre de l'infectiologue. 1994, IX (19) : 640-50. Allain P. Les Médicaments Estern 1996. p.315.

44. ANRS (Agence Nationale de recherches sur le SIDA). L'observance aux traitements contre le VIH/SIDA : mesure, déterminants, évolution. *Edition EDK*. Paris 2001 ; 111p.

45. Ouedraogo C. Observance au traitement ARV : Améliorer la prise en charge globale des PVVIH. (charlogo@yahoo.fr), Sidwaya.

http://www.lefaso.net/impression.php3?id_article=6834&id_rubrique, consulté le 18 Avril 2005.

46. Traoré A S. Mise au point de méthodes d'identification et de dosage des médicaments antirétroviraux utilisés au Mali. Thèse Pharm, Bamako, 2005 ; n°61

FICHE SIGNALÉTIQUE

Non : CAMARA

Prénom : Mme KONE Adama

Thème : Etude rétrospective du contrôle de qualité des antirétroviraux au Laboratoire National de la Santé du Mali (LNS) de 2009 à 2012.

Année universitaire : 2013 – 2014

Lieu de soutenance : Faculté de pharmacie (FAPH) / Université des Sciences, Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie du Mali.

Secteur d'intérêt : Sciences pharmaceutiques, Chimie Analytique, Pharmacie Hospitalière.

Résumé

Introduction : Les actualités sur le sida sont globalement encourageantes, mais il reste toujours un problème majeur de santé publique dans le monde et surtout en Afrique subsaharienne qui connaît les taux les plus importants de morbidité et de mortalité.

L'avènement des ARV a été d'un apport important dans la lutte contre cette affection, cependant, il est important de maintenir une qualité optimale de ces molécules enfin d'éviter des résistances. Les objectifs de cette étude étaient de répertorier les laboratoires de fabrication des ARV importés au Mali et l'analyse de la qualité de ces molécules.

Méthodologie : Il s'agissait d'une étude rétrospective de type transversal sur la qualité des ARV durant une période allant de Janvier 2009 à Décembre 2012 au LNS du Mali.

Cette étude a pris en compte tous les ARV réceptionnés et analysés durant la dite période. Les données ont été saisies et analysées sur le logiciel Epi-Info 3.5.3. L'étude a été conduite conformément aux bonnes pratiques de laboratoire en vigueur et le strict respect de la confidentialité des résultats d'analyse.

Résultats : De Janvier 2009 à Décembre 2012, 400 échantillons d'ARV provenant de 15 laboratoires de fabrication appartenant à 6 pays ont été analysés au LNS. De cette analyse nous avons trouvé 16 principes actifs dont le plus fréquent était la combinaison thérapeutique AZT-3TC- NVP (20%). A savoir que 95,3% de ces ARV provenaient de l'Inde, et 44,5% étaient fabriqués par le laboratoire Cipla. Ces molécules étaient conformes dans 99,7% et un seul cas de non-conformité a été mis en évidence soit 0,3% ; c'était la combinaison thérapeutique 3TC-

D4T en comprimé, fabriqué par le laboratoire Cipla de l'Inde et analysé en 2009 ; le motif de non-conformité était le sous dosage de la 3TC.

Conclusion : Les ARV ont été d'apport capital pour la prise en charge des PVVIH cependant, une mise en cause de la qualité de ces molécules peut provoquer une résistance qui rendra encore difficile la prise en charge. Ainsi, il est important d'analyser la qualité des ARV enfin d'améliorer la prise en charge.

Mots-clés : ARV, contrôle de qualité, LNS, PVVIH.

SERMENT DE GALIEN

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

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

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession, avec conscience et de respecter 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 couverte d'opprobres et méprisée de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !