

Université Boubnider Salah Constantine 3

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de
Docteur en Pharmacie

Intitulé du thème

**Validation D'Une Méthode D'Analyse Par HPLC
D'Un Médicament À Usage Vétérinaire
« Oxy-tétracycline »**

Présenté par **Dikra DJERAFI & Chiraz CHERGUI**

Encadreur : **Dr M H BELMAHI**

Présidente du Jury

Dr Imane MECHERI

Maitre-assistante Toxicologie, CHU Constantine

Membres du Jury

Dr Faouzi TITAH

Maitre-assistant Chimie Analytique, CHU Constantine

Dr M H BELMAHI

Maitre-assistant Chef de Service, CHU Constantine

Sommaire

Liste des Abréviations	I-II
Liste des Tableaux.....	III
Liste des Figures	IV
Présentation des Laboratoires Vetopharm Pro.....	V

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre 01 Partie Bibliographique : Validation et contexte réglementaire

1. Cycle de vie d'une méthode d'analyse.....	3
2. Définition d'une méthode d'analyse.....	3
2.1. Cycle de vie d'une méthode d'analyse.....	3
2.1.1. Sélection d'une méthode.....	5
2.1.2. Mise au point d'une méthode	6
2.1.3. Validation d'une méthode.....	6
2.1.4. Usage en routine.....	6
2.1.5. Revalidation.....	7
3. Validation d'une méthode d'analyse	8
3.1. Définition de la validation d'une méthode d'analyse.....	8
3.1.1. Définition d'une validation.....	8
3.1.2. Définition de la validation d'une méthode d'analyse.....	8
3.2. Référentiel Qualité Pharmaceutique.....	8
3.2.1. Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication.....	8
3.2.2. International Council of Harmonization ICH.....	9
3.2.3. Définition de la Pharmacopée.....	9
3.2.4. Système Qualité Pharmaceutique.....	10
3.2.5. Food and Drug Administration FDA.....	11
3.2.6. Normes International Standardisation Organisation ISO.....	11

3.3.	Place de la validation d'une méthode d'analyse.....	11
4.	Critères de Validation	12
4.1.	Spécificité	12
4.2.	Linéarité	12
4.3.	Exactitude/ Justesse.....	12
4.4.	Fidélité/ Précision.....	13
4.5.	Limite de détection.....	14
4.6.	Limite de quantification.....	14
4.7.	Robustesse.....	15
4.8.	Les outils statistiques.....	16
5.	Documentation	17
6.	La molécule : Oxy-tétracycline.....	18
6.1.	Utilisation thérapeutique des tétracyclines.....	18
6.2.	Propriétés physicochimique et formule.....	18
6.3.	Pharmacocinétique du principe actif chez l'animal.....	20
6.3.1.	Absorption et distribution.....	20
6.3.2.	La phase d'élimination : études de déplétion des résidus.....	21
6.4.	Mode d'action.....	23
6.5.	Risques thérapeutiques et toxicité.....	23
6.5.1.	Limites maximales de résidus LMR.....	23
6.5.2.	Délai d'attente avant l'abattage de l'animal.....	24
6.5.3.	Risque pour le consommateur lie au LMR.....	24
7.	Méthodes d'extraction et de détection des antibiotiques	25
7.1.	L'Intérêt du dosage de l'humeur vitrée HV en toxicologie.....	26
7.2.	Dosage et délai d'attente.....	27
7.3.	Prélèvement.....	27

Chapitre 02 Partie Pratique

1.	Matériel set méthode.....	28
1.1.	Matériels	28
1.2.	Matières	29
1.3.	Protocole.....	29
1.3.1.	Préparation de la gamme de dilution	29
1.3.2.	Préparation du Blanc	31
1.3.3.	Préparation de la phase mobile	31
1.3.4.	Solutions de Travail.....	31
1.4.	Conditions opératoires.....	31
2.	Résultats	32
2.1.	Choix de la molécule de référence.....	32
2.2.	Validation analytique selon les recommandations du SFTP.....	32
2.2.1.	Spécificité.....	34
2.2.2.	Linéarité.....	34
2.2.2.1.	Courbe des trois jours.....	34
2.2.2.2.	Comparaison des trois courbes d'étalonnage.....	37
2.2.3.	Preuves de linéarité.....	39
2.2.4.	Détermination des limites de détection et quantification.....	39
2.2.5.	Exactitude.....	39
2.2.6.	Fidélité et précision.....	41
2.2.7.	Sensibilité	42
2.3.	Profile d'exactitude	43
2.4.	Analyse des produits finis.....	45
2.5.	Analyse de l'humeur vitrée	45
3.	Discussion	46
4.	Conclusion.....	48

Bibliographie

Annexes

Résumé

L'analyse, quantitative et qualitative, tend toujours, et de plus en plus vers de nouvelles méthodes et techniques dans un souci de gain de temps, de gains d'argent et de précision. L'adoption d'une nouvelle méthode ou son adaptation à un nouveau domaine d'application nécessite sa mise à l'épreuve, autrement dit qu'elle soit validée.

L'utilisation de la HPLC comme méthode de dosage de l'Oxytétracycline a été testée pour les critères suivants : Spécificité, Linéarité, Limites de détection et quantification, Exactitude, Fidélité, Précision, sensibilité et répétabilité.

La méthode s'est montrée valide pour les utilisations définies et en conformité parfaite avec les critères de validation définis par l' SFSTP 2006 et l'ICH Q2_R_2005.

Par ailleurs, l'analyse toxicologique de l'humeur vitrée bovine par le biais du dosage de l'Oxytétracycline a signalé un non-respect de délai d'abatage et de la posologie décrite ce qui se répercutait de manière néfaste sur l'homme et surtout chez la population à risque (Nouveau-Née, enfants et sujets âgés).

Mots Clés : Contrôle de qualité, Médicament oxytétracycline, Validation d'une méthode analytique, HPLC, Humeur vitrée, Délai d'abatage.

Abstract

The quantitative and qualitative analysis always tends, more and more towards new methods and techniques in order to save time, gain money and precision. The adoption of a new method or its adaptation to a new field of application requires its testing.

The use of HPLC as an Oxytetracycline assay method was tested for the following criteria: Specificity, Linearity, Limits of Detection and Quantification, Accuracy, Fidelity, Accuracy, Sensitivity and Repeatability as part of validation at the level of industrial.

The method was valid for defined uses and in full compliance with the validation criteria defined by SFSTP 2006 and ICH Q2_R_2005.

In addition, the toxicological analysis of bovine vitreous humor using the assay for Oxytetracycline reported a failure to comply with the slaughtering time and dosing schedule, which had deleterious effects on man and especially in the population at risk (New-born, children and elderly).

Keywords: Quality control, Drug, Oxytétracycline, Validation of an analytic method, HPLC, Mood glazed, Time to slaughte