



EVALUATION DE LA QUALITE DES ASSOCIATIONS DE DOSE FIXE (ADF) D'ANTITUBERCULEUX DISTRIBUEES PAR LE PROGRAMME NATIONAL CONTRE LA TUBERCULOSE AU BENIN

A. Yemoa^{*1,2}, J. Bonou³, P. Wachinou⁴, A. Adjagboni^{1,2}, A. Amoussa^{1,2}, E. Agbokponto^{1,2}, V. Habyalimana⁵, P. Doffon^{1,2}, R.D Marini^{6,7}.

¹ Université d'Abomey Calavi, Faculté des Sciences de Santé de Cotonou, Bénin; ²Laboratoire de Chimie Analytique et Analyse des Médicaments (LCAM); Faculté des Sciences de Santé de Cotonou, Université d'Abomey Calavi, Bénin; ³Laboratoire National de Contrôle de Qualité des Médicaments et Consommables Médicaux/Ministère de la Santé, Bénin; ⁴Ministère de la Santé, Programme National contre la Tuberculose (PNT), Cotonou, Bénin; ⁵Rwanda Biomedical Center / Medical Procurement and Production Division, Kigali, Rwanda; ⁶Université de Liège (ULiège), Département de Pharmacie, CIRM, Laboratoire de Chimie Analytique Pharmaceutique (LCAP), Quartier Hôpital, Avenue Hippocrate 15, 4000- Liège, Belgique; ⁷ Université de Kisangani, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Plateau du Campus, B.P. 2012, Kisangani, Commune de Makiso, République Démocratique du Congo

*Correspondance: ayemoa@yahoo.fr

RESUME

Les structures de préqualification mises en place par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et adoptées par les Programmes Nationaux contre la Tuberculose (PNT) dont celui du Bénin, permettraient l'achat de médicaments antituberculeux de bonne qualité. Cependant, les distributeurs, les prescripteurs et les dispensateurs ne sont pas en situation de vérifier la qualité des médicaments distribués ou dispensés. Il est d'ailleurs difficile de détecter des produits de mauvaise qualité et cela nécessiterait des moyens coûteux rarement disponibles dans les pays du sud avec des risques au point de vue de santé publique. Nous avons entrepris le contrôle de qualité de 4 différents lots d'association médicamenteuse de dose fixe (ADF) d'Ethambutol, de Rifampicine, d'Isoniazide, de Pyrazinamide (ERHZ comprimés) échantillonnés à la Centrale d'Achat des Médicaments Essentiels (CAME) et dans 9 magasins du PNT-Bénin à travers une étude transversale descriptive et analytique. Les différents tests effectués sont : l'identification visuelle, les tests pharmacotechniques, les tests d'identification des principes actifs par chromatographie sur couche mince, spectroscopie Raman et de dosage par chromatographie liquide à haute performance couplée au détecteur UV-Visible. Il ressort de l'analyse de nos résultats, que 100% des échantillons (n=12) ont satisfait aux critères de qualité testés eu égard aux spécifications de la pharmacopée américaine (USP). Ainsi, du point de vue des tests d'identification des principes actifs dans les échantillons, nous avons noté une nette superposition entre les spectres de l'échantillon et de la référence (p-value : 98,7%). De même, les tests pharmacotechniques ont révélé que plus de 80,0 % (normes USP) de chaque principe actif était libéré après 45 minutes de dissolution des comprimés analysés (Ethambutol : 93,3 % ; Rifampicine : 89,8 % ; Isoniazide : 91,4% ; Pyrazinamide : 92,1%). Les teneurs moyennes rapportées pour le dosage (normes USP: 90,0 à 110,0%) étaient respectivement 99,0±0,4 % (Ethambutol); 99,0±0,3 % (Rifampicine) ; 96,6 ± 2,6 % (Isoniazide) ; 99,6 ±0,2 (Pyrazinamide). Nous avons noté une perte de matière de 0,5 ±0,2 % (<1%) au test de friabilité et un temps de désagrégation de 13,4 ± 1,6 min (< 30min). L'ensemble de ces résultats très satisfaisants encouragerait les autorités du PNT-Bénin à maintenir la veille et le niveau d'exigence pour la sélection des fournisseurs.

Mots clés : Tuberculose, Antituberculeux, Contrôle de qualité, PNT-Bénin.

ABSTRACT

Quality Control of antituberculosis drugs (fixed dose drug combination) distributed by Benin's National Tuberculosis Program (NTP)

Prequalified structures set up by the World Health Organization (WHO) and adopted by the National Tuberculosis Programs (NTP) including Benin's NTP, would allow the purchase of good quality anti-tuberculosis drugs. However, distributors, prescribers and dispensers are not in a position to verify the quality of the drugs distributed or dispensed. It is moreover difficult to detect poor quality antituberculosis drugs in context of lack resources. We performed the quality control of 4 different batches of fixed dose drug combination of Ethambutol, Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide (ERHZ tablets) sampled at the Central Procurement Center for Essential Medicines (CAME) and in 9 stores of NTP-Benin through a descriptive and analytical cross-sectional study. The different tests carried out are: visual identification, pharmacotechnical tests, identity tests by thin layer chromatography, Raman spectroscopy, assay for Ethambutol, Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide by High-performance liquid chromatography including the use of ultraviolet spectrophotometer as detector. We carried out that 100% of the samples (n = 12) had satisfied the quality criteria tested with regard to the specifications of the American Pharmacopoeia (USP). For Active Pharmaceutical Ingredient (API) identifying tests, we noted a clear overlap between the spectra of the sample and of the reference (p-value = 98.7%). Similarly, the dissolution test determined compliance with the dissolution requirements where stated in the individual tablets (more than 80.0% of each active ingredient was released after 45 minutes of dissolution of the tablets analyzed (Ethambutol: 93.3%; Rifampicin: 89.8%; Isoniazid: 91.4%; Pyrazinamide: 92.1%). Concerning assay by HPLC, Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide, and Ethambutol Hydrochloride tablets analyzed contain not less than 90.0 percent and not more than 110.0 percent of the labeled amounts of rifampin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol: 99.0 ± 0.4% (Ethambutol); 99.0 ± 0.3% (Rifampicin); 96.6 ± 2.6% (Isoniazid); 99.6 ± 0.2 (Pyrazinamide). We noted a loss of material of 0.5 ± 0.2% (<1%) in friability test and all samples analyzed disintegrate within the prescribe time: 13.4 ± 1.6 min (<30min). Due to these good results, the NTP-Benin is encourage to maintain the high level of requirements in the selection of suppliers.

Keywords: Tuberculosis, Antituberculosis drugs, Quality control, NTP-Benin

INTRODUCTION

La tuberculose est une maladie infectieuse, contagieuse et chronique due aux bactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* ou Bacille de Koch (BK) [1]. Elle demeure à l'échelle mondiale, un problème majeur de santé publique [2]. Le nombre de cas de tuberculose en 2017 est estimé à 10,4 millions avec 1,8 millions de décès. Les pays à faibles revenus sont les plus touchés par cette maladie avec 26% de cas en Afrique et 61% en Asie [3]. En 2014, environs 9,6 millions de cas incidents de tuberculose étaient enregistrés dans le monde dont 2,7 millions dans la région Afrique selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [4]. Au Bénin en 2018, au total 33 380 cas présumés de tuberculose ont bénéficié du dépistage bactériologique. Parmi eux, 4 096 cas de tuberculose toutes formes confondues ont été notifiés dont 4 003 (98%) cas incidents contre 3 662 en 2017, soit une hausse de 12%. La hausse du nombre de cas en 2018 a porté essentiellement sur les nouveaux cas de TPB- (29%), les nouveaux cas de TPB+ (13%), les cas d'échecs (13%) et les nouveaux cas de TEP (2%) [5].

De nos jours, le traitement se fait avec les Associations à Doses Fixes (ADF) d'antituberculeux contenant 2, 3 ou 4 principes actifs. Ces présentations permettent de s'assurer que le patient a pris en une seule fois la dose efficace de tous les médicaments prescrits [6]. Les combinaisons de doses fixes simplifient la prescription sur ordonnance, facilitent l'approvisionnement et réduisent les risques de résistance aux mycobactéries [7]. Cependant, des cas d'échec thérapeutique existent et peuvent être liés à plusieurs facteurs comme : le mauvais fonctionnement des Programmes Nationaux contre la Tuberculose (PNT), l'émergence de souches résistantes, la mauvaise gestion des stocks de médicaments, l'absence d'approvisionnement en produits de qualité, etc [6].

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

Les structures de préqualification mises en place par l'OMS et adoptées par les PNT dont celui du Bénin, permettent l'achat de médicaments antituberculeux de bonne qualité. Ce-

pendant les médicaments une fois sur place pourraient pour des raisons diverses (conditions de conservations inappropriées : lumière, chaleur, humidité...) subir des détériorations.

La poursuite du contrôle de qualité s'avère donc nécessaire afin de s'assurer que les médicaments administrés aux malades demeurent toujours de bonne qualité. Pour éviter le risque de création de souches résistantes, les principes fondamentaux du traitement standardisé de la tuberculose recommandent le choix initial d'une quadruple association à dose fixes, d'où l'intérêt du choix de l'association ERHZ pour la présente étude dont l'objectif général était d'évaluer la qualité des médicaments antituberculeux à base d'Ethambutol, Rifampicine, Isoniazide, Pyrazinamide (ERHZ), distribués par le PNT-Bénin.

MATERIELS ET METHODE D'ETUDE

Matériels et réactifs

Le méthanol Lichrosolv®, le toluène Emsure®, la triéthylamine, l'acétonitrile Lichrosolv®, l'acide phosphorique, l'hydroxyde d'ammonium et l'hydroxyde de sodium ont été achetés chez Merck (Darmstadt, Allemagne). L'eau de qualité ultrapure a été obtenue au moyen d'un appareil de marque Milli-Q-Plus Direct-Q®3 0,22µm Millipak® (Millipore, Billerica, Massachusetts-MA, USA). Les comprimés de ERHZ (Ethambutol 275 mg, Rifampicine 150 mg, Isoniazide 75 mg, Pyrazinamide 400 mg) fabriqués par Macleods Pharmaceuticals Limited (Mumbai, Inde) ont été échantillonnés dans les magasins du PNT-Bénin. Les substances chimiques de référence (SCR) d'Ethambutol, Rifampicine, Isoniazide et Pyrazinamide ont été achetées auprès de Sigma-Aldrich Inc (Saint-Louis, Missouri, États-Unis).

Appareils

Pour réaliser les expériences, nous avons utilisé l'appareil de dissolution de marque Distek TCS 0200C (WERKE/Allemagne), le friabilimètre de marque LOGAN FAB-2S (LOGAN/Allemagne), l'appareil de désintégration de marque Pharmatest PTZ D - 63512 Hainburg ISO 9001 (HAINBURG/Germany). L'identification des composés a été faite par spectroscopie Raman (NanoRam, USA). Les analyses quantitatives ont été réalisées au moyen de l'équipement de chromatographie liquide à haute performance de la marque AGILENT 1260 (Agilent, Japon). Nous avons utilisé la colonne chromatographique LI-CHROSPHER® (250mm x 4,6mm I.D) renfermant une phase stationnaire C₁₈ (5µm dp).

Démarche analytique

Chaque échantillon a reçu un code d'identification et a été par la suite accompagné d'une fiche de prélèvement précisant notamment la date et le lieu de la collecte, la quantité prélevée et les conditions de conservation (température du laboratoire). Le Laboratoire National de Contrôle de qualité des Médicaments et Consommables Médicaux (LNCQ) du Ministère de la Santé et le Laboratoire de Chimie Analytique et d'Analyse des Médicaments (LCAM) de la Faculté des Sciences de la Santé (FSS) de Cotonou ont servi de lieu

d'analyse des échantillons. Il s'agit de laboratoires inscrits dans une démarche d'assurance qualité. Le logigramme de la figure 1 reprend les différentes activités réalisées dans le cadre du contrôle de qualité des échantillons après établissement du protocole de recherche. Les méthodes utilisées sont celles de la Pharmacopée Américaine 2019 Edition 42NF37. Les tests minilab® ont été utilisés pour certains tests de pharmacotechnie ainsi que les tests d'identification par chromatographie sur couche mince.

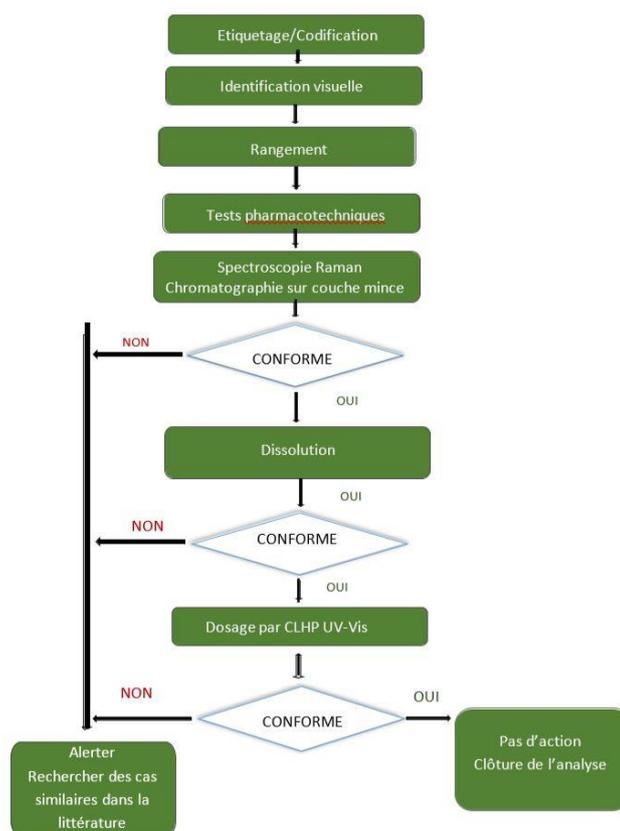


Figure 1 : Démarche analytique et décisionnelle au LCAM

Les conditions opératoires appliquées pour le test de dissolution des comprimés sont reprises dans le tableau I.

Tableau I : Conditions opératoires du test de dissolution de ERHZ

Paramètres opératoires	Conditions opératoires
Durée de l'essai	45 minutes
Milieu de dissolution	Tampon phosphate à pH 6,8
Température du milieu de dissolution	37 °C ± 0,5 °C
Volume du milieu de dissolution	900 mL
Vitesse de rotation de la palette	100 rotations/minute
Temps de prélèvement	45 minutes
Volume de prélèvement	5mL
Nombre de ballons pour l'essai	6
Nombre d'unité de comprimé par ballon	1

Le tableau II indique la composition de la phase mobile au cours du dosage. Le débit de distribution de cette phase mobile est fixé à 1,5 ml/min. Le volume d'injection des solutions à analyser est de 20µL. Nous avons utilisé la même colonne chromatographique que précédemment

Tableau II: Conditions opératoires du dosage de la Rifampicine, l'Isoniazide et la Pyrazinamide

Temps (minutes)	Solution A (%)	Solution B (%)	Elution
0	100	0	Equilibration
0-5	100	0	Isocratique
5-6	100 → 0	0 → 100	Gradient linéaire
6-16	0	100	Isocratique

Pour le dosage de l'Ethambutol, la phase mobile était composée d'un mélange d'acétonitrile et du tampon triéthylamine 0,1% pH 7 (50 : 50, v/v). Elle est débitée à 1mL/min. Le volume d'injection était de 10 µL. Les pics chromatographiques ont été détectés à 200nm et intégrés automatiquement.

RESULTATS ET DISCUSSION

La présente étude vise à contribuer à l'évaluation de la qualité des combinaisons de dose fixe d'antituberculeux distribués par le PNT-Bénin. Elle a inclus 12 échantillons de médicament à base d'Ethambutol, Rifampicine, Isoniazide, de Pyrazinamide présentés sous forme de comprimés pelliculés et acquis auprès de fournisseurs préqualifiés OMS. L'échantillonnage a été réalisé dans le magasin de la Centrale d'Achat des Médicaments Essentiels (CAME) cis au ministère de la santé et dans les magasins des 12 niveaux intermédiaires du PNT localisés dans les 12 départements du Bénin. La prise en compte des 2 niveaux décentralisés du PNT (central et intermédiaire) permet non seulement d'avoir une idée globale sur la qualité des médicaments à la réception mais aussi de savoir si la qualité est conservée en cours de la distribution et dans le contexte de grosses variations des conditions de conservation entre le niveau central et le niveau intermédiaire. Le tableau III récapitule les échantillons prélevés ainsi que les lieux du prélèvement.

Tableau III : Echantillons prélevés dans le cadre du contrôle de qualité

Numéro de l'échantillon	Numéro de lot	Provenance	Dénomination	Teneur déclarée	Forme galénique
1	ERC6806A		Chlorhydrate	275 mg	
2	ERC6807A	CAME	d'Ethambutol (E)		
3	ERC6808A				
4	ERC6807A	Atlantique-Littoral			
5	ERC6806A	Ouémé-Plateau	Rifampicine (R)	150 mg	comprimés pelliculés
6	ERC6806A	Mono			
7	ERC6807A	Couffo			
8	ERC6806A	Zou	Isoniazide (H)	75 mg	
9	ERC6807A	Collines			
10	ERC6809A	Borgou	Pyrazinamide (Z)	400 mg	
11	ERC6809A	Alibori			
12	ERC6808A	Atacora- Donga			

Dans le but de déceler quelque dégradation des comprimés d'ERHZ, nous avons accordé une place importante à l'analyse minutieuse des caractères organoleptiques des comprimés lors de l'inspection visuelle ainsi que du poids moyen lors du test d'uniformité de masse. D'autres tests ont été également réalisés notamment les tests pharmaco techniques (friabilité, dissolution, désagrégation), les tests physicochimiques.

Il ressort de l'analyse de nos résultats, que 100% des échantillons (n=12) ont satisfait aux critères de qualité testés eu égard aux spécifi-

cations de la pharmacopée américaine (USP). Ainsi, du point de vue des tests d'identification des principes actifs dans les échantillons, nous avons noté une nette superposition entre les spectres de l'échantillon et de la référence (p-value : 98,7%). De même, les tests pharmaco techniques ont révélé que plus de 80,0 % (normes USP) de chaque principe actif était libéré après 45 minutes de dissolution des comprimés analysés (Ethambutol : 93,3 % ; Rifampicine : 89,8 % ; Isoniazide : 91,4% ; Pyrazinamide : 92,1%). Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Gylchrist et al (100%) en 2012 [6] et Ashokray et al en 2005 [8].

Les teneurs moyennes rapportées pour le dosage (normes USP: 90,0 à 110,0%) étaient respectivement $99,0 \pm 0,4$ % (Ethambutol); $99,0 \pm 0,3$ % (Rifampicine) ; $96,6 \pm 2,6$ % (Isoniazide) ; $99,6 \pm 0,2$ (Pyrazinamide). Nos résultats sont conformes à ceux rapportés par Gylchrist et al en 2012, qui a obtenu 100% de conformité pour le dosage par la chromatographie liquide haute performance (CLHP) couplée à la dissolution de la combinaison ERHZ [6]. Des taux de conformité similaires (100%) ont été aussi rapportés par plusieurs auteurs : Enocke et al [9], Khuhawar et al [10], Faria et al [11], malgré les différences dans les méthodes d'analyse utilisées.

Même si une non-conformité aux tests pharmaco techniques ne signifie pas obligatoirement la présence d'un risque pour la santé du patient, il est inquiétant de voir certaines classes de médicaments comme les antibiotiques s'effriter lors du test de friabilité [12]. Ceci poserait le problème de perte de dose active à administrer. De même pour être actifs, un médicament doit être désagrégé et libérer le principe actif dans le délai prévu. Une mauvaise désagrégation ou une mauvaise dissolution pourrait influencer la biodisponibilité du médicament et ainsi influencer l'efficacité thérapeutique recherchée. Un contact trop prolongé avec la muqueuse gastrique pourrait entraîner des ulcérations de cette muqueuse.

Etant donné que les tests pharmaco techniques sur les produits pharmaceutiques sont des étapes incontournables avant la libération des lots, nous ne notons aucun problème de qualité des combinaisons de dose fixe d'ERHZ distribués par le PNT-Bénin. Pour avoir un tel niveau de qualité de ses médicaments, le fabricant de produits pharmaceutiques doit avoir les équipements qualifiés ainsi que du personnel qualifié. Il doit être inscrit dans une démarche d'assurance qualité et respecter les bonnes pratiques de fabrication.

L'ensemble de ces exigences réglementaires étant vérifié par les programmes de préqualification de l'OMS, nos résultats confirment que les produits analysés sont acquis auprès de fabricants préqualifiés OMS.

Ceci encourage les autorités de ce programme de santé à maintenir la veille et le niveau d'exigence pour la sélection des fournisseurs d'antituberculeux et à toujours s'approvisionner auprès de fournisseurs dont les produits et les sites de fabrications sont préqualifiés par l'OMS.

CONCLUSION

L'étude n'a décelé aucune non-conformité quant aux critères de qualité testés. Cette étude préliminaire confirme la réalité de la distribution par le PNT-Bénin des médicaments de bonne qualité acquis auprès de fournisseurs préqualifiés.

Une étude plus large devrait être cependant menée selon les mêmes règles de bonne pratique pour une analyse plus complète de la situation en incluant les magasins de stockage des niveaux périphériques du programme

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Programme National contre la Tuberculose (PNT). Guide du programme national de lutte contre la tuberculose. 3^{ème} édition. Cotonou; **2006**. 59p.
2. Oulahbal FB, Haulet PC. La tuberculose en Afrique. *Epidémiologie et mesures de lutte. Med Trop.* **2004**. 64:224–8.
3. World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report. Geneva: WHO; **2016**. 214p.
4. World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report. 20^{ème} édition. Geneva: WHO; **2015**. 204p.
5. Ministère de la Santé/Programme National contre la Tuberculose (PNT). Rapport annuel du PNT. Cotonou: **2018**. 65p.
6. Gylchrist H. et al Dosage par la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) couplée à la dissolution d'une combinaison d'antituberculeux : thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou. Université d'Abomey-Calavi du Bénin. **2012**. 158p. n°063
7. Union internationale contre Tuberculose et maladies pulmonaires. Lignes directrices pour la gestion clinique et opérationnelle de la tuberculose pharmacorésistante, Paris, France: **2013**. 104p.
8. Ashokraj Y, Kohli G, Kaul CL, Panchagnula R: Quality control of anti-tuberculosis FDC formulations in the global market: Part II – accelerated stability studies. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005. 9: 1266-72.
9. Enoche FO: Spectrophotometric determination of Isoniazide in pure and pharmaceutical formulation using vanillin. *International Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2010. 2: 55-8
10. Khuhawar MY, Rind FMA and Rajper AD. High-performance liquid chromatographic determination of Isoniazide, Pyrazinamide, and Isoniazide in Pharmaceutical preparations. **2005**. 15: 269-74.
11. Faria, A.F., Souza, M.V.N., Bruns, R.E., et Oliveira, MAL. *Talanta.* **2010**. 82, 333–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2010.04.044>
12. United States Pharmacopoeia 2019 USP 42–NF 37.