

Manual

Accompagnant le GPHF-Minilab®

Supplément 2014

Volume II

TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE



Une organisation caritative
créée et soutenue par
Merck, Darmstadt · Allemagne



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

SUPPLÉMENT 2014 AU VOLUME II DES TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Rédigé par

Richard W. O. Jähnke, Kornelia Dwornik et Kai Fischer

* * *

Revu par

Adrian Barojas, Daniel Bempong, Sanford Bradby, Kennedy Chibwe, Yanga Dijiba, Latifa El Hadri, Mustapha Hajjou, Lukas Roth, Patrick Lukulay et Souly Phanouvong

* * *

Publié par

Le Global Pharma Health Fund (GPHF), une organisation caritative créée et soutenue par Merck Darmstadt - Allemagne, et le programme Promoting the Quality of Medicines (PQM) de la United States Pharmacopeia (USP)

* * *

Copyright © GPHF & USP PQM

* * *

Remerciements

La publication de ce supplément a été rendue possible grâce au généreux soutien financier des Etats-Unis par l'intermédiaire de la United States Agency for International Development (USAID). Le GPHF et le USP PQM sont responsables du contenu de ce manuel et celui-ci ne reflète pas nécessairement les opinions de l'USAID ou du Gouvernement des Etats-Unis.

* * *

Le projet GPHF-Minilab®

La prolifération des médicaments contrefaits constitue un danger sérieux pour la santé. L'organisation internationale de police criminelle (Interpol) estime qu'une proportion inquiétante de dix à trente pour cent de tous les médicaments distribués dans les pays en voie de développement est soit contrefaite, ou présente à la base une qualité insuffisante. Le combat des contrefaçons a pour but d'assurer que les investissements réalisés dans les programmes de santé pendant plusieurs décennies ne sont pas anéantis par manque de vigilance.

Afin de lutter contre les médicaments anti-infectieux contrefaits ou de qualité très médiocre infiltrant les organisations d'approvisionnement en médicaments et les programmes prioritaires de traitement des maladies dans les pays à paludisme, tuberculose et VIH/SIDA endémiques, le Global Pharma Health Fund (GPHF) à Francfort, une organisation caritative exclusivement soutenue par Merck, Darmstadt - Allemagne, a développé et organisé la distribution à coût modéré du GPHF-Minilab®, un mini-laboratoire destiné à une vérification rapide de la qualité des médicaments et à la détection de produits pharmaceutiques contrefaits.

Depuis de nombreuses années, les GPHF-Minilabs agissent en tant que défense de première ligne dans le combat contre les médicaments contrefaits et de qualité substandard menaçant la santé de millions d'individus vivant dans les pays en voie de développement. Dans le monde entier, plus de 600 Minilabs ont déjà été fournis dans 80 pays à travers les régions d'Afrique, d'Asie-Pacifique et d'Amérique latine.

Les institutions gouvernementales de la santé publique et les agences nationales de la sécurité des médicaments en coopération avec l'Organisation Mondiale de la Santé et le programme Promoting the Quality of Medicines (PQM) de la U.S. Pharmacopeia (USP) représentent les principaux partenaires actifs. Ces dernières années, des projets communs de contrôle de qualité des médicaments, mis en place en Asie du sud-est et en Afrique orientale ont permis la saisie par Interpol de millions de comprimés antipaludiques contrefaits ne contenant aucun principe actif.

Un besoin toujours constant de contrôle de qualité des médicaments, simple et de coût abordable dans les pays à bas revenus, constitue aujourd'hui l'un des moteurs principaux dans la mise au point de nouveaux protocoles de tests pour le GPHF-Minilab®. Le besoin de généralisation de tests souligne l'importance de la collaboration avec nos partenaires actifs aux Etats-Unis. Pour une plus grande sécurité des patients et une meilleure situation sanitaire dans les pays en voie de développement, d'autres partenaires sont invités à se joindre à nous.

* * *

Réalisé par Grimm Graphic Design, Ochsenfurt, Allemagne

Table des Matières

Chapitre	Page
Nouvelles procédures individuelles de tests chromatographiques.....	4
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 6</i>	
<i>Antibiotiques injectables pour la septicémie du nouveau-né et la TB. Complément sur les antidiabétiques essentiels.</i>	
6.73 Amikacine sulfate en tant que solution et poudre pour injection	4
6.74 Aminosalicilate (PAS) sodium et base en tant que granulés à libération modifiée.....	8
6.75 Capréomycine sulfate en tant que poudre pour injection.....	12
6.76 Céfazoline sodium en tant que poudre pour injection.....	16
6.77 Ceftriaxone sodium en tant que poudre pour injection.....	20
6.78 Metformine chlorhydrate en comprimés combinés ou non à la glibenclamide.....	24
6.79 Streptomycine sulfate en tant que poudre pour injection.....	28
Tableau synoptique des procédures de test chromatographiques.....	32
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 7</i>	
Liste actualisée des substances témoin du GPHF-Minilab®.....	33
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 10</i>	
Santé & Sécurité.....	35

6.79 Streptomycine sulfate en tant que poudre pour injection

Examen Primaire du Médicament via Inspection Physique

I. INSPECTION PHYSIQUE

Chercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique, comme il est décrit dans les chapitres d'entrée concernant les méthodes et les procédés généraux du manuel principal. Inscrire toutes les caractéristiques de produit en utilisant le formulaire de rapport en tant que guide. La streptomycine de pharmacopée se compose, exprimée en formule linéaire, de streptomycine hémitrisulfate anhydre et se présente sous forme de poudre pour injection. La poudre est conditionnée dans

des flacons contenant généralement 1000 mg de streptomycine base. D'autres teneurs sont connues. Certains produits peuvent se référer au sulfate de streptomycine plutôt qu'à sa formule base en utilisant un dosage semblable à celui mentionné ci-dessus. Il convient par conséquent d'interpréter avec précaution la déclaration d'étiquette pouvant prêter à confusion.

II. RESULTATS & MESURES A PRENDRE

Les produits pharmaceutiques particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement manquent ou sont incorrects, à formule médicamenteuse erronée ou à emballage défectueux, à étiquettes incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées en langue étrangère, doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

Vérification de l'Identité et de la Teneur en Substance Active via le Test de CCM

I. PRINCIPE

Les poudres de streptomycine pour injection sont dissoutes dans de l'eau et la présence et teneur en principes actifs dans la solution essai sont vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) en référence à une substance témoin appropriée.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|--|---|
| 1) Balance de poche | 14) Plaque chauffante |
| 2) Feuille d'aluminium | 15) Papier filtre |
| 3) Spatule | 16) Paire de ciseaux |
| 4) Entonnoir | 17) Paire de pincettes |
| 5) Bande adhésive | 18) Lampe UV de 254 nm |
| 6) Stylo feutre | 19) Lampe UV de 366 nm |
| 7) Crayon et règle graduée | 20) Cuve de révélation à l'iode |
| 8) Fioles de verre de 10 ml | 21) Cuve d'immersion (bêcher de 250 ml) |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 à 25 ml) | 22) Méthanol |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 à 100 ml) | 23) Eau |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F ₂₅₄ , taille 5x10 cm | 24) Chlorure de sodium |
| 12) Tubes capillaires de verre (2-µl de capacité) | 25) Ammonium hydroxyde concentrée à 25% |
| 13) Cuve chromatographique (récipient de 500-ml) | 26) Solution d'acide sulfurique à 96% |
| | 27) Substance témoin, de la streptomycine hémitrisulfate anhydre par exemple, en tant que poudre pure en vente dans le commerce |

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut de la streptomycine hémitrisulfate anhydre en tant que poudre pure en vente dans le commerce ou un produit brut approprié de bonne qualité à des fins de référence. Placer une feuille d'aluminium sur le plateau de mesure de la balance électronique de poche fournie, régler le zéro et peser correctement une quantité de 0,30 g environ de streptomycine hémitrisulfate en utilisant une spatule. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium dans un flacon de laboratoire de 40 ml et rincer toute la poudre obtenue à l'aide de 30 ml d'eau. A chaque opération, inscrire le poids exact obtenu et adapter de façon appropriée la quantité d'eau pour la dissolution, en utilisant 29 ml d'eau par exemple pour 0,29 g ou 32 ml d'eau pour 0,32 g de substance témoin ayant été collectée à partir du réservoir.

Fermer le flacon de laboratoire et agiter jusqu'à dissolution de tous les solides. La solution obtenue doit contenir 10 mg de streptomycine hémitrisulfate totale ou l'équivalent de 8 mg environ de sa base par ml; étiqueter en tant que 'Solution Témoin du Stock de Streptomycine'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test.

Remarque importante: La balance fournie ne peut peser exactement des quantités inférieures à 0,25 g. L'écart standard relatif de +/- 2% est considéré comme trop élevé. Pour la mesure de quantités plus élevées, l'écart passe à seulement +/- 1% environ. La balance n'enregistrera pas non plus des modifications de quelques milligrammes ajoutés ou soustraits approchant progressivement le poids cible de 0,30 g. Retirer alors la feuille d'aluminium ou tapoter légèrement le plateau de la balance à l'aide d'un crayon ou d'une spatule à chaque fois que quelques milligrammes ont été ajoutés ou soustraits afin de compenser l'inertie dynamique et d'assurer des lectures correctes.

IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMITE SUPÉRIEURE)

La solution témoin du stock ne nécessite pas de dilution supplémentaire. Elle représente déjà la concentration de travail finale de 8 mg de streptomycine base totale au ml. Pour une manipulation plus aisée toutefois, une partie du liquide de surface peut être transféré dans une fiole de 10 ml.

Cette solution témoin d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100 % de streptomycine.

V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMITE INFÉRIEURE)

A l'aide des pipettes graduées, introduire 4 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml d'eau. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 6,4 mg de streptomycine base par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage de Streptomycine 80%'.

Cette solution témoin d'usage inférieure représente un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de streptomycine comme l'indique l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active représente la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique approprié.

VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 750 MG DE SULFATE DE STREPTOMYCINE (~600 MG DE STREPTOMYCINE BASE) PAR FIOLE

Prendre une fiole scellée d'un produit pharmaceutique approprié acquis en magasin ou sur le marché. Ouvrir et transférer toute la poudre dans un flacon de verre de laboratoire de 40 ml équipé d'un entonnoir. Pour le rinçage et la dissolution, utiliser 30 ml d'eau mesurée avec précision à l'aide d'une pipette. Rincer trois fois le flacon d'échantillon vide et le bouchon une fois à l'aide de solvant directement au-dessus de l'ouverture de l'entonnoir. S'assurer qu'aucun ou seule une quantité minimale de résidu d'eau de rinçage reste dans la fiole d'échantillon. Ajouter finalement la quantité restante d'eau, fermer le flacon de laboratoire et agiter jusqu'à dissolution de tous les solides et obtention d'une solution claire.

750 MG DE STREPTOMYCINE BASE PAR FIOLE

Ouvrir une fiole d'échantillon et transférer toute la poudre dans un flacon de verre de laboratoire de 40 ml équipé d'un entonnoir. Pour le rinçage et la dissolution, utiliser précisément 37,5 ml d'eau suivant la procédure décrite ci-dessus pour un dosage de 750 mg de sulfate de streptomycine.

1000 MG DE SULFATE DE STREPTOMYCINE (~800 MG DE STREPTOMYCINE BASE) PAR FIOLE

Ouvrir une fiole d'échantillon et transférer toute la poudre dans un flacon de verre de laboratoire de 100 ml équipé d'un entonnoir. Pour le rinçage et la dissolution, utiliser précisément 40 ml d'eau suivant la procédure décrite ci-dessus pour un dosage de 750 mg de sulfate de streptomycine.

1000 MG DE STREPTOMYCINE BASE PAR FIOLE

Ouvrir une fiole d'échantillon et transférer toute la poudre dans un flacon de verre de laboratoire de 100 ml équipé d'un entonnoir. Pour le rinçage et la dissolution, utiliser précisément 50 ml d'eau suivant la procédure décrite ci-dessus pour un dosage de 750 mg de sulfate de streptomycine.

Toutes les solutions essai du stock produites doivent contenir finalement 20 mg de streptomycine base par ml et être étiquetées en tant que 'Solution Essai du Stock de Streptomycine'. Ne préparer ces solutions que juste avant la réalisation de chaque test. Poursuivre le travail avec les solutions claires obtenues.

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1,5 ml d'eau. Fermer, agiter le flacon et étiqueter en tant que 'Solution Essai d'Usage de Streptomycine'.

La concentration escomptée de streptomycine dans la solution essai d'usage est 8 mg par ml et doit égaler la concentration de streptomycine de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne de base parallèle à environ 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaque CCM et déposer 2 µl de chaque solution essai et témoin comme le présente la page ci-contre, en utilisant les tubes capillaires fournis.

Il est possible de déposer jusqu'à cinq échantillons sur une plaque. Contrôler l'uniformité de tous les dépôts sous une lampe UV de 254 nm. Même si la streptomycine reste elle-même invisible, certains excipients peuvent apparaître facilitant la vérification. Tous les dépôts doivent être ronds de forme et également répartis sur la ligne de base. Bien qu'ils puissent différer en intensité, ils ne doivent jamais différer en diamètre. Des intensités différentes sont dues aux quantités résiduelles d'excipients ou à différentes concentrations de substance active dans les solutions d'échantillons. Une différence dans la taille de la tache cependant, est due à un mauvais dépôt. Répéter cette étape si les dépôts ne présentent pas de forme homogène la première fois.

Noter que le remplissage des pipettes microcapillaires peut demander un certain temps quand il s'agit de solutions d'échantillons aqueuses. Les résidus aqueux provoquant des taches floues et un étirement de celles-ci, sécher complètement tous les solvants d'extraction avant le développement du chromatogramme en utilisant la plaque chauffante fournie au niveau le plus faible. Eviter d'appliquer la chaleur trop longtemps; la durée idéale est inférieure à une minute.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

Transférer d'abord 1 g de chlorure de sodium dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Ajouter ensuite 3 ml d'eau, 7 ml d'ammonium hydroxyde concentrée et enfin 10 ml de méthanol en utilisant toujours une pipette graduée appropriée. Fermer la cuve et mélanger fermement. Border les parois de la cuve à l'aide de papier filtre et attendre environ 15 minutes de façon à assurer la saturation de la chambre par les vapeurs de solvant. Déposer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant aux trois-quarts de la plaque environ; la durée du développement est de 35 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le solvant, puis faire évaporer tout surplus de solvant à l'aide d'une plaque chauffante si nécessaire.

X. REVELATION DES TACHES

Sécher tous les résidus de solvant et exposer la chromatoplaque à la vapeur d'iode pendant une minute environ. Retirer la plaque de la cuvette d'iode et observer la plaque à la lumière du jour et lumière UV de 254 nm.

La plaque iodée peut être encore utilisée pour une coloration à l'acide sulfurique. A cet effet, remplir le béccher plastique fourni de 250 ml à l'aide de 190 ml de méthanol, puis de 10 ml de solution d'acide sulfurique concentrée et mélanger doucement. Laisser refroidir le mélange et immerger la chromatoplaque dans la solution de coloration en utilisant une paire de pincettes. Retirer immédiatement la plaque de la solution et faire écouler tout le surplus de liquide sur un papier tissu. Essuyer le liquide résiduel au dos de la plaque et continuer à sécher toute la solution colorante sur la plaque chaude fournie. Pendant le réchauffement, toutes les taches de streptomycine apparaissent progressivement à la lumière du jour. Cela peut demander 3 à 5 minutes. Utiliser cette méthode de détection à des fins d'identification et de quantification.

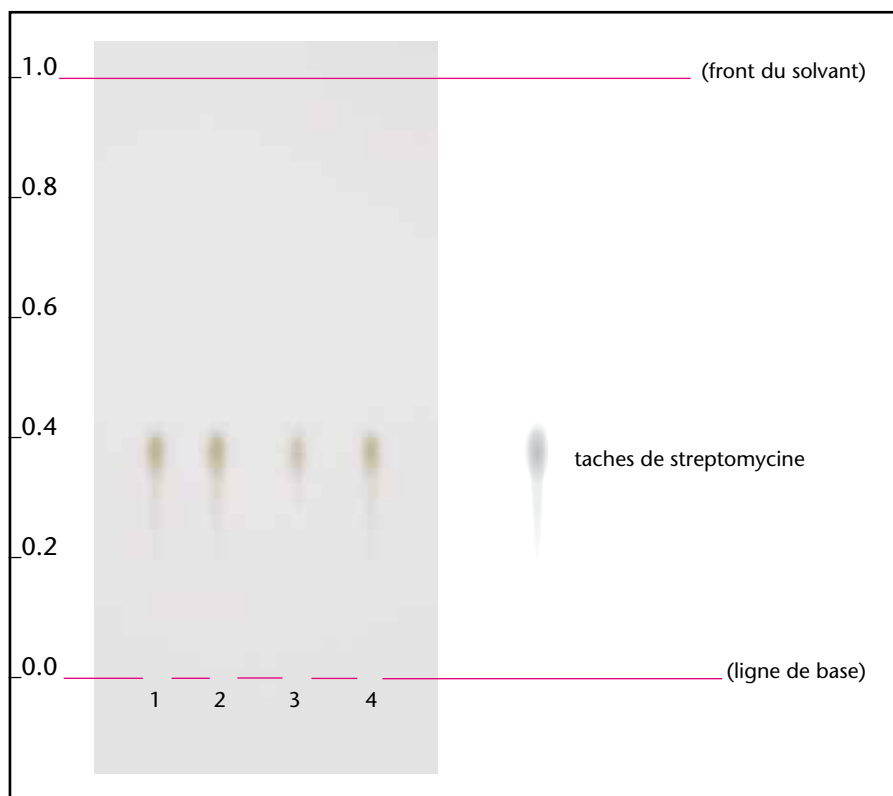
XI. CHROMATOPLAQUE OBSERVEE A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A L'ACIDE SULFURIQUE

Développement n°1:
Solution témoin supérieure représentant 100% de streptomycine totale

Développement n°2:
Un médicament de bonne qualité à teneur acceptable en streptomycine

Développement n°3:
Un médicament de basse qualité à teneur inacceptable en streptomycine

Développement n°4:
Solution témoin inférieure représentant 80% streptomycine totale



XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A L'IODE

Une tache brun orange à une distance de déplacement de 0,36 indique la présence de streptomycine dans la solution essai. L'intensité de la tache s'accroît quand on expose la plaque à la lumière UV de 254 nm. Continuer à observer la plaque même quand l'iode commence à s'évaporer. Les taches reflétant une qualité moindre de produit disparaîtront d'abord suivies des taches de référence représentant une teneur en substance active de 80 à 100 pour cent, respectivement.

XIII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A L'ACIDE SULFURIQUE

Quand on expose la plaque à l'acide sulfurique et à la chaleur, toutes les taches de streptomycine déjà observées pendant la coloration à l'iode tournent maintenant au brun gris. Des taches supplémentaires générées par la solution essai indiquent la présence d'autres substances actives ou une dégradation de streptomycine; ce dernier cas est plus probable lorsque les taches sont accompagnées de taches principales plus petites. Une tache principale plus petite provenant de la solution essai peut indiquer aussi une faible teneur en streptomycine due à une faible concentration ou un poids de remplissage insuffisant, et une absence de tache indique une absence de substance active.

XIV. RESULTATS & MESURES A PRENDRE

La tache de streptomycine du chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, de taille, d'intensité, de forme et de distance parcourue à la tache du chromatogramme obtenue avec la solution témoin supérieure et inférieure. On doit parvenir à ce résultat pour chaque méthode de révélation. Si ce n'est pas le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Ecartez le lot si la teneur en substance active ne peut être constatée après un troisième développement. Transmettre des échantillons supplémentaires à un laboratoire de contrôle de médicaments entièrement équipé afin d'obtenir un deuxième jugement. Garder des échantillons et placer le lot en quarantaine jusqu'à la prise d'une décision définitive de rejet ou de mise en circulation des médicaments. A des fins de documentation, prendre des photos des différentes lectures avec un appareil-photo numérique; éteindre d'abord le flash.

Véritable ou contrefait?



Lutter contre les médicaments contrefaisants · Protéger la vie



Une organisation caritative
créée et soutenue par Merck,
Darmstadt · Allemagne

Global Pharma Health Fund
Frankfurt, Allemagne
Tél. +49-69-46939-662
Fax +49-69-46939-852
info@gphf.org · www.gphf.org



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

**U.S. Agency for
International Development**
Office of Health, Infectious Diseases
and Nutrition, Ronald Reagan Bldg.,
1300 Pennsylvania Avenue NW
Washington, DC 20523-3700, USA
Tél. +1-202-712-4789
Fax +1-202-216-3702
aboni@usaid.gov · www.usaid.gov

United States Pharmacopeia
Promoting the Quality
of Medicines program
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790, USA
Tél. +1-301-816-8162
Fax +1-301-816-8374
pqm@usp.org · www.pqmusp.org