

Manual

Accompagnant le GPHF-Minilab™

Supplément 2016

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 2016 AU VOLUME II DES TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Rédigé par

Richard W. O. Jähnke, Kornelia Dwornik et Ram Pathak

* * *

Revu par

Daniel Bempong, Sanford Bradby, 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 dans les pays en voie de développement. Dans le monde entier, plus de 700 Minilabs ont déjà été fournis dans 90 pays à travers les régions d'Afrique, d'Asie-Pacifique et d'Amérique latine. La liste des substances actives s'allonge progressivement permettant maintenant aux médicaments de traiter les maladies non contagieuses ainsi que la santé de la mère et de l'enfant.

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 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>Médicaments essentiels dans le traitement des maladies contagieuses</i>	
6.85 Artésunate (à usage oral et parentéral y compris les co-formules fréquentes)	4
6.86 Benzathine benzylpénicilline (pénicilline G benzathine)	8
6.87 Benzylpénicilline sodium ou potassium (pénicilline G sodium ou potassium)	12
6.88 Doxycycline (en tant qu'hydrate et monohydrate)	16
6.89 Gentamicine (en tant que sulfate en solution injectable)	20
6.90 Procaine benzylpénicilline (pénicilline G procaine y compris les formules renforcées)	24
Tableau synoptique des procédures de test chromatographiques	28
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 7</i>	
Liste actualisée des substances témoin du GPHF-Minilab™	29
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 10</i>	
Santé & Sécurité	31

6.87 Benzylpénicilline sodium ou potassium (pénicilline G sodium ou potassium)

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 benzylpénicilline sodium et potassium se présente en tant que poudre injectable dans des fioles contenant généralement 1 ou 5 millions d'unités de pénicilline G sodium standard historique de 0,0006 mg par unité. Cela signifie 0,6 et 3,0 g de benzylpéni-

cilline sodique ou les quantités d'équivalents de benzylpénicilline potassium appropriées. Le contenu des fioles de pénicilline G peut être exprimé en grammes, en unités internationales ou dans les deux. Un million d'unités sont parfois remplacées par le préfixe métrique «méga»; dans ce cas donc, par 1 et 5 méga unités de benzylpénicilline sodique standard historique. D'autres dosages sont connus. Les désignations de benzylpénicilline et pénicilline G sont interchangeables.

II. RÉSULTATS ET MESURES À 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

Le contenu total d'une fiole de benzylpénicilline sodium ou potassium est dissous dans de l'eau; la présence et le contenu du principe actif dans la solution essai sera vérifié ensuite par chromatographie sur couche mince (CCM) en référence à la benzylpénicilline potassium en tant que contrôle.

II. EQUIPEMENT ET RÉACTIFS

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

III. PRÉPARATION DE LA SOLUTION TÉMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut de la benzylpénicilline potassium en tant que poudre pure en vente dans le commerce, un produit fini ou de la matière première appropriée, de bonne qualité (>85%) à des fins de référence. Placer une feuille d'aluminium sur le plateau de mesure de la balance de poche électronique fournie, régler le zéro et mesurer correctement 0,3 g env. de benzylpénicilline potassium en utilisant une spatule. Vider avec précaution la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de verre de laboratoire de 10 ml et rincer toute la poudre obtenue à l'aide de 5,7 ml d'eau en utilisant une pipette graduée. Inscrire à chaque fois le poids exact obtenu et adapter la quantité d'eau appropriée pour la dissolution en utilisant par exemple, 5,5 ml d'eau pour 0,29 g ou 6,1 ml d'eau pour 0,32 g de substance témoin collectée depuis le récipient principal respectivement. Refermer le flacon de laboratoire et agiter jusqu'à

dissolution de tous les solides. La solution finale obtenue doit contenir 50 mg d'équivalents de benzylpénicilline sodique par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Pénicilline G'. 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 0,3 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. PRÉPARATION DE LA SOLUTION TÉMOIN D'USAGE 100% (LIMITE SUPÉRIEURE)

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 9 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 5 mg d'équivalents de benzylpénicilline sodique par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage de Pénicilline G 100%'.

Cette solution témoin d'usage supérieure représente un produit de bonne qualité contenant 100% d'équivalents de benzylpénicilline sodique.

V. PRÉPARATION DE LA SOLUTION TÉMOIN D'USAGE 80% (LIMITE INFÉRIEURE)

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 11,5 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 4 mg d'équivalents de benzylpénicilline sodique par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage de Pénicilline G 80%'.

Cette solution témoin d'usage inférieure représente un produit de moindre qualité contenant seulement 80% d'équivalents de benzylpénicilline sodique 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.

VI. PRÉPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK À PARTIR D'UN PRODUIT DÉCLARANT UNE TENEUR DE 600 MG (1 MILLION D'UNITÉS, 1 MÉGA) D'ÉQUIVALENTS BENZYL PÉNICILLINE SODIQUE PAR FIOLE

Prendre une fiole scellée d'un produit pharmaceutique approprié acquis en magasin ou sur le marché. Ouvrir le flacon, ajouter 4 ml d'eau à l'aide d'une pipette graduée appropriée, refermer à l'aide du bouchon de caoutchouc et agiter. Ouvrir à nouveau, transférer entièrement le liquide obtenu dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml. Rincer la fiole vide deux fois à l'aide de 4 ml d'eau chaque fois, et combiner les solutions de rinçage à la solution de pénicilline; la quantité complète de solvant utilisé s'élève finalement à 12 ml. Agiter jusqu'à dissolution complète de tous les solides.

3000 MG (5 MILLION D'UNITÉS, 5 MÉGA) D'ÉQUIVALENTS DE BENZYL PÉNICILLIN SODIQUE PAR FIOLE

Prendre une fiole scellée d'un produit pharmaceutique approprié acquis en magasin ou sur le marché. Ouvrir, ajouter 20 ml d'eau, à l'aide d'une pipette graduée appropriée, refermer à l'aide du bouchon de caoutchouc et agiter. Transférer le liquide obtenu dans un flacon de verre de laboratoire de 100 ml. Rincer la fiole vide deux fois à l'aide de 20 ml d'eau chaque fois, et combiner les solutions de rinçage à la solution de pénicilline; la quantité complète d'eau utilisée s'élève finalement à 60 ml. Agiter jusqu'à dissolution complète de tous les solides.

Toutes les solutions essai du stock produites doivent contenir finalement 50 mg d'équivalents de benzylpénicilline sodique par ml et être étiquetées en tant que 'Solution Essai du Stock de Pénicilline G'. Ne préparer ces solutions que juste avant la réalisation de chaque test. Continuer à travailler avec les solutions claires obtenues.

VII. PRÉPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 9 ml de méthanol. Fermer, agiter la fiole et étiqueter en tant que '*Solution Essai d'Usage de Pénicilline G.*

La quantité escomptée d'équivalents de benzylpénicilline sodique dans cette solution essai d'usage est de 5 mg par ml et doit égaler la quantité d'équivalents de benzylpénicilline sodique de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

VIII. DÉPÔT D'ÉCHANTILLON

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. Tous les échantillons 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 essai. Une différence dans la taille de la tache cependant, est due à un dépôt incorrect. Répéter cette étape si les dépôts ne présentent pas de forme homogène la première fois.

Des résidus aqueux pouvant causer des taches diffuses et allongées, sécher entièrement tous les solvants d'extraction avant le développement de la plaque chromatique. A cet effet, agiter simplement la plaque à l'air; à cette étape, l'utilisation d'une plaque chaude entraînerait une détérioration immédiate de la pénicilline et doit être évitée dans tous les cas.

IX. DÉVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 17 ml d'acétate d'éthyle, 5 ml d'acide acétique anhydre et 3 ml d'eau dans le bécher utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer le récipient 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 20 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le solvant, puis faire évaporer tout excès de solvant à l'aide maintenant d'une plaque chauffante, jusqu'à ce que l'odeur d'acide acétique ait presque disparue.

X. RÉVÉLATION DES TACHES

Sécher tous les résidus de solvant et exposer la plaque chromatique à la lumière UV de 254 nm avant et après la coloration à l'iode en utilisant la lampe à piles fournie. La coloration à la vapeur d'iode ne demande que quelques secondes. Utiliser ces méthodes de détection pour l'identification de la benzylpénicilline et à des fins de quantification.

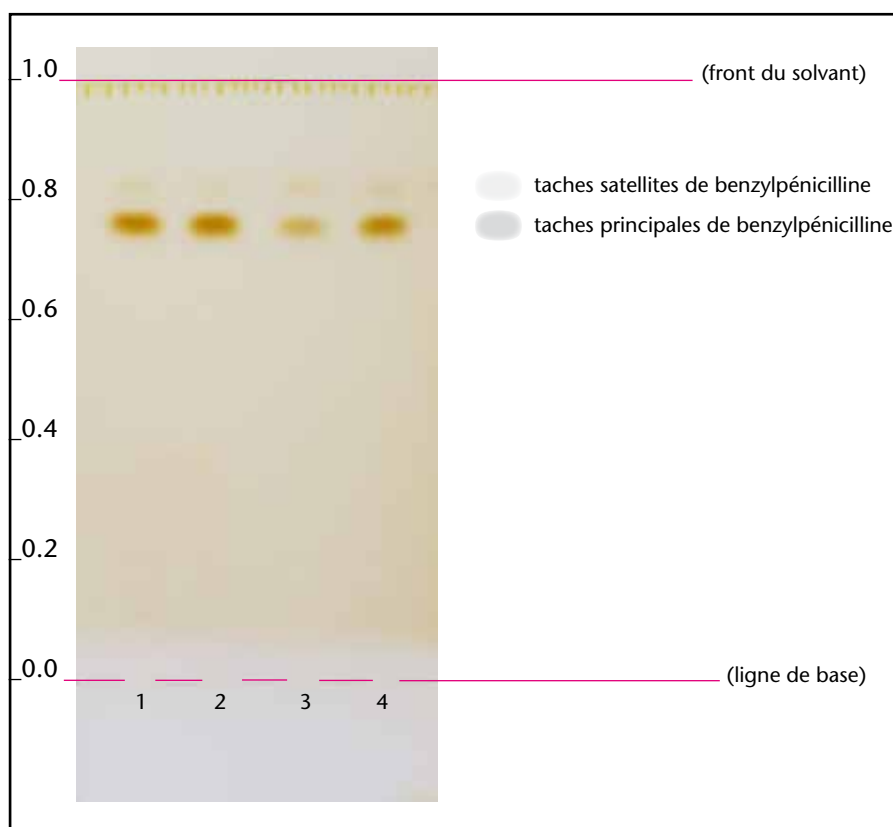
XI. CHROMATOPLAQUE OBSERVÉE À LA LUMIÈRE DU JOUR APRÈS COLORATION À L'IODE

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

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

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

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



XII. OBSERVATIONS À LA LUMIÈRE UV DE 254 NM AVANT COLORATION À L'IODE

Une tache bleu-violet à une distance de déplacement de 0,74 environ, indique la présence de benzylpénicilline dans la solution essai.

XIII. OBSERVATIONS À LA LUMIÈRE DU JOUR APRÈS COLORATION À L'IODE

Une forte tache principale brune à une distance de déplacement de 0,74 environ, combinée à une tache satellite beaucoup plus faible à 0,81 env. indique la présence de benzylpénicilline dans la solution essai. De fortes taches supplémentaires générées par la solution essai indiquent la présence d'autres substances actives ou une détérioration de benzylpénicilline; ce dernier cas est plus probable quand les taches sont associées à une tache principale plus petite. Une tache principale plus petite de la solution essai peut indiquer aussi une teneur faible en pénicilline en raison de la faible concentration ou du remplissage pauvre; l'absence de tache indique l'absence complète de benzylpénicilline. Continuer à observer la plaque même quand l'iode commence à s'évaporer. Les taches reflétant des produits de moindre qualité disparaîtront d'abord progressivement, suivies des taches de référence représentant une teneur en substance active de 80% à 100%, respectivement.

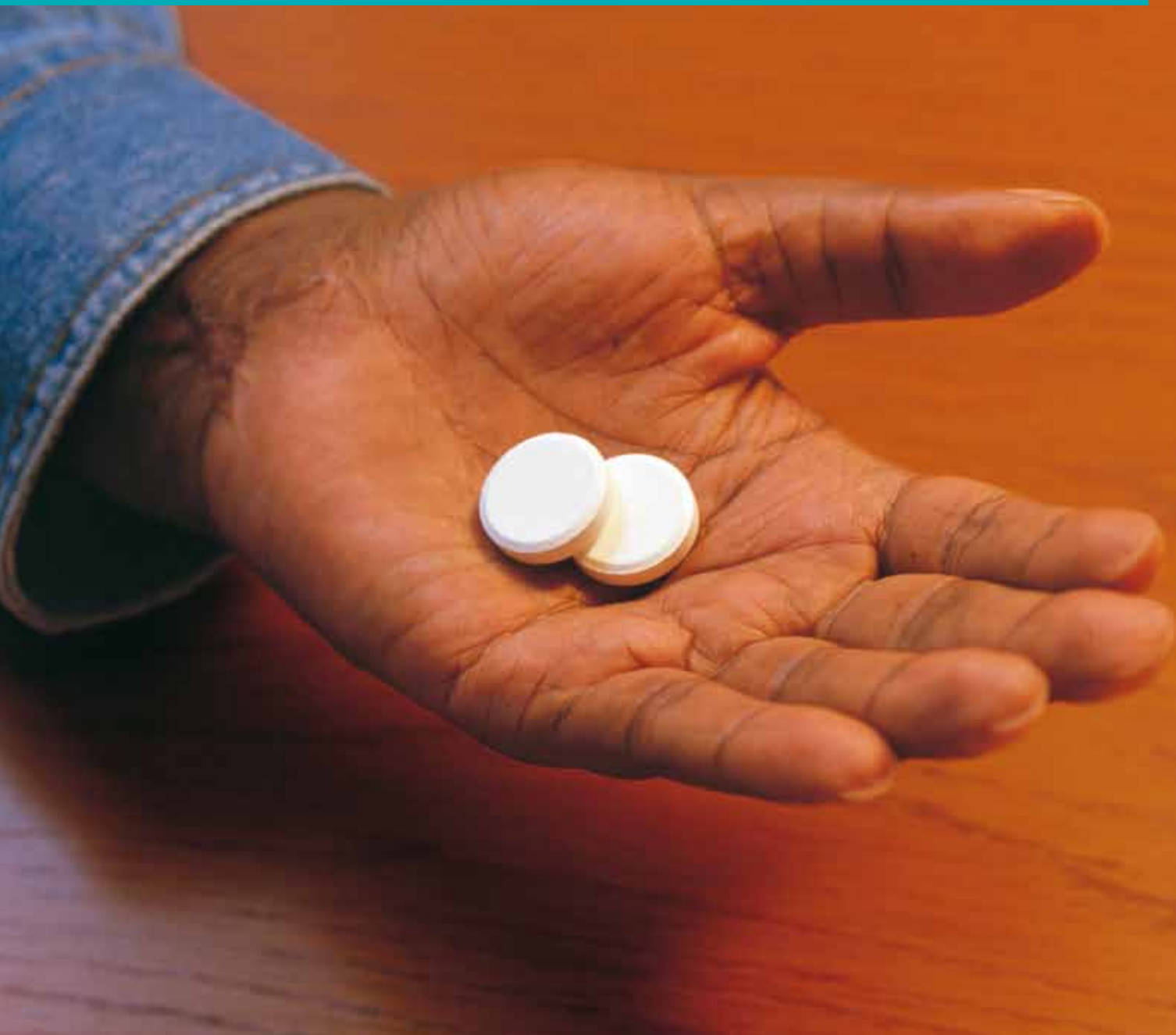
XIV. OBSERVATIONS À LA LUMIÈRE UV DE 254 NM APRÈS COLORATION À L'IODE

Quand on expose la plaque colorée à l'iode à la lumière UV de 254 nm, toutes les taches de benzylpénicilline déjà observées pendant la coloration à l'iode à la lumière du jour et avant la coloration à la lumière UV de 254 nm apparaissent de plus en plus nettement maintenant. Ceci facilitera la poursuite de la lecture et interprétation.

XV. RÉSULTATS & MESURES À PRENDRE

La tache principale de benzylpénicilline 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 le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Ecarter 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 une photo de la lecture 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

**United States Agency for
International Development**
USAID/GH/OHS
2231 Crystal Drive
Arlington, VA 22202
Tél. +1-571-551-7207
aboni@usaid.gov · www.usaid.gov

**United States
Pharmacopeial Convention**
Global Public Health
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852
Tél. +1-301-816-6370
jin@usp.org · www.pqmusp.org