

Manuel

Accompagnant le GPHF-Minilab™

Édition spéciale 2024
Détection d'antigel dangereux
dans les liquides à usage oral,
y compris tutoriel vidéo

Tests physiques & Chromatographie sur couche mince



Richard W. O. Jähnke et Kornelia Dwornik



Une association caritative avec le
soutien bénévole de Merck KGaA,
Darmstadt, Allemagne

Remarque importante

Les produits chimiques accompagnant le GPHF-Minilab™ ainsi que les produits pharmaceutiques à tester peuvent contenir des substances dangereuses. Par conséquent, les utilisateurs du Minilab ainsi que les assistants doivent suivre exactement toutes les instructions de ce manuel et du manuel principal afin d'éviter des risques possibles pour la santé, résultant d'un contact accidentel avec ces substances ou avec les produits pharmaceutiques.

Il convient de manipuler avec précaution les produits chimiques et pharmaceutiques afin d'éviter la production excessive de poussière ou de vapeurs dans l'atmosphère. L'analyse devrait être effectuée sous une hotte d'aspiration ou en cas de conditions précaires là où une ventilation simple mais suffisante est garantie.

Des symptômes tels que somnolence, difficultés respiratoires, nausées ou éruption cutanée doivent être communiqués au responsable, surtout si de grandes quantités

de dissolvants organiques ont été renversées accidentellement.

En cas de renversement ou d'éclaboussures de liquides affectant la peau ou les yeux, rincez abondamment à l'eau, communiquez l'incident au responsable et, si nécessaire, au médecin local pour de plus amples soins.

Utilisez des vêtements de protection et des lunettes de sécurité lors de la manipulation de solutions de test, par exemple, acides concentrés ou solutions alcalines.



Utiliser des vêtements de protection, un tablier et des lunettes de sécurité par exemple, avant de commencer tout travail sur le contrôle de qualité des médicaments. Laver soigneusement les mains et le visage après le travail.

Introduction et champ d'application

I. DEPISTAGE DE LA NON-CONFORMITE PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE *

Le diéthylène glycol (DEG) et l'éthylène glycol (EG) sont des substances toxiques utilisées comme solvants industriels et agents antigel, potentiellement mortelles même en petites quantités, en particulier pour les enfants. Bien que les niveaux exacts d'ingestion sans danger de DEG et d'EG soient inconnus, un niveau de détection de 0,1 % pour chaque substance est considéré comme adéquat pour le contrôle des matières premières et des produits finis. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique précise et exacte largement utilisée pour tester le DEG et l'EG dans les produits pharmaceutiques. Pour les laboratoires nationaux de contrôle de la qualité (LNCQ) qui n'ont pas accès à la CPG, la chromatographie sur couche mince (CCM) permet de détecter la présence de DEG et d'EG à des concentrations inférieures

à environ 0,2 % (m/m). Toutefois, les limites de détection peuvent varier d'un laboratoire à l'autre et les analystes doivent vérifier ces limites. La CCM ne peut pas faire la distinction entre le DEG et l'EG, de sorte que la concentration combinée des deux contaminants est déterminée à l'aide d'un mélange 50:50 (m/m) pour l'étalonnage. Étant donné la nature semi-quantitative de la CCM et sa limite de détection potentielle au-dessus du seuil de sécurité de 0,1 %, il existe un risque de ne pas détecter des produits dont les concentrations individuelles de DEG ou d'EG sont supérieures à 0,1 % mais inférieures à la limite de détection. Par exemple, avec une limite de détection de 0,5 %, un échantillon contenant 0,3 % de DEG et pas d'EG donnerait un résultat faussement négatif. Pour atténuer ce risque, les LNQC utilisant le CCM devraient envisager de confirmer les résultats dans des laboratoires collaborateurs ou des centres régionaux utilisant la CPG. Dans l'attente de l'inclusion dans la *Pharmacopée Inter-*

nationale, les groupes de travail impliqués dans le test des impuretés du DEG/EG ont exprimé le souhait de transférer la méthode de dépistage du DEG/EG par CCM existante au kit mobile Minilab de CCM.

II. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les laboratoires nationaux de contrôle de la qualité des médicaments qui ont accès à la chromatographie en phase gazeuse (CPG) devraient l'utiliser directement pour les tests de confirmation au lieu de la méthode de dépistage par CCM. La CPG est au moins deux fois plus sensible que la CCM et permet de détecter des concentrations de DEG ou d'EG aussi faibles que 0,1 % (m/m). La CPG peut également analyser les excipients utilisés dans la fabrication de produits pharmaceutiques. Les laboratoires qui confirment une contamination au DEG ou à l'EG dans des excipients ou des produits finis doivent en informer rapidement les autorités réglementaires.

Contrôle des limites par chromatographie sur couche mince (CCM)

I. PRINCIPE DU TEST

Un niveau de détection de 0,1 % pour le DEG et l'EG est considéré comme adéquat pour le dépistage des produits pharmaceutiques finis. Une concentration combinée de DEG et d'EG est mesurée, en utilisant un mélange 50:50 (m/m) pour l'étalonnage. Pour le test limite, les niveaux de DEG et d'EG dans les liquides oraux doivent être inférieurs à la solution d'étalonnage combinée la plus basse de 0,2 % de DEG/EG. Cette solution d'étalonnage inférieure étant difficilement détectable, aucune tache correspondante ne doit être visible dans les solutions d'échantillon examinées. Ou, si une tache correspondante est détectable, les solutions d'échantillons contiennent du DEG/EG au-dessus du niveau de sécurité.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|--|---|
| 1) Feuille d'aluminium | 14) Papier filtre |
| 2) Entonnoir | 15) Pair de ciseaux |
| 3) Spatule | 16) Pair de pincettes |
| 4) Bande adhésive | 17) Bécher en plastique de 250 ml |
| 5) Stylo feutre | 18) Permanganate de potassium |
| 6) Crayon et règle graduée | 19) Carbonate de sodium (anhydre) |
| 7) Fioles de verre de 10 ml | 20) Hydroxyde de sodium (granulé) |
| 8) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml) | 21) Toluène |
| 9) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml) | 22) Acétone |
| 10) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F ₂₅₄ taille 5 x 10 cm | 23) Méthanol |
| 11) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité | 24) Solution d'ammoniacque 25% |
| 12) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml) | 25) Eau distillée/du robinet/en bouteille |
| 13) Plaque chauffante | 26) Balance de poche électronique |
| | 27) Substance témoin, par exemple le diéthylène glycol (DEG) et l'éthylène glycol (EG) en tant que substances pures provenant de sources commerciales |

III. PREPARATION DE LA SOLUTION MERE D'ETALONNAGE

Un mélange DEG/EG 50/50 (m/m) est nécessaire pour la préparation de la solution mère d'étalonnage, le DEG et l'EG étant eux-mêmes obtenus en tant que substance pure avec une pureté de presque 100 % à partir de sources commerciales. À l'aide de la balance électronique de poche et d'un flacon de verre de laboratoire de 50 ml fourni, peser correctement environ 0,3 g de diéthylène glycol pur et 0,3 g d'éthylène glycol pur. Afin de surmonter l'inertie dynamique de la balance et de garantir des lectures correctes, soulever le flacon de laboratoire ou tapoter le plateau de pesée avec un stylo ou une spatule à chaque fois que quelques milligrammes supplémentaires ont été ajoutés. Diluer avec 29,4 ml de méthanol à l'aide d'une pipette droite graduée appropriée. Ajuster la quantité de méthanol si le résultat de la pesée diffère du poids cible. Fermer le flacon de laboratoire et agiter jusqu'à dissolution complète du mélange DEG/EG. La solution obtenue doit contenir 10 mg de diéthylène glycol total et 10 mg d'éthylène glycol total par ml et être étiquetée comme '*Solution mère d'étalonnage de DEG/EG*'. Idéalement, cette solution devrait être fraîchement préparée pour chaque test, bien qu'elle semble être stable pendant plusieurs jours si elle est utilisée de façon répétée. La solution finale obtenue doit être claire et incolore.

IV. PREPARATION DE LA SOLUTION D'ETALONNAGE DE TRAVAIL 1%

Pipeter 0,5 ml de la solution mère dans un flacon de 10 ml et ajouter 9,5 ml de méthanol. Fermer et agiter le flacon. La solution obtenue doit contenir 1,0 mg de DEG/EG total par ml et être étiquetée comme '*Solution d'étalonnage de travail de DEG/EG 1%*'.

V. PREPARATION DE LA SOLUTION D'ETALONNAGE DE TRAVAIL 0.5%

Pipeter 0,2 ml de la solution mère dans un flacon de 10 ml et ajouter 7,8 ml de méthanol. Fermer et agiter le flacon. La solution obtenue doit contenir 0,5 mg de DEG/EG total par ml et être étiquetée comme '*Solution d'étalonnage de travail de DEG/EG 0,5%*'.

VI. PREPARATION DE LA SOLUTION D'ETALONNAGE DE TRAVAIL 0.2%

Pipeter 0,2 ml de la solution mère dans un flacon de 25 ml et ajouter 19,8 ml de méthanol à l'aide de pipettes graduées appropriées. Fermer et agiter le flacon. La solution obtenue doit contenir 0,2 mg de DEG/EG total par ml et être étiquetée comme '*Solution d'étalonnage de travail de DEG/EG 0,2%*'.

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION DE L'ECHANTILLON DE TRAVAIL

À l'aide de la balance de poche électronique et d'un flacon de laboratoire en verre de 10 ml fourni, pesez correctement environ 1 g de solution d'échantillon. Afin de surmonter l'inertie dynamique de la balance et de garantir des lectures correctes, soulever le flacon de laboratoire ou tapoter le plateau de pesée avec un stylo ou une spatule à chaque fois que quelques milligrammes supplémentaires ont été ajoutés. Diluer avec 9 ml de méthanol à l'aide d'une pipette droite graduée appropriée. Ajuster la quantité de méthanol lorsque le résultat de la pesée diffère du poids cible. Fermer le flacon et agiter jusqu'à dissolution complète de l'échantillon. La solution obtenue doit contenir 100 mg d'échantillon total par ml et être étiquetée comme '*Solution de travail de l'échantillon*'. Cette solution doit être fraîchement préparée pour chaque test. Une précipitation ou une séparation des phases peut se produire. Continuer à travailler avec le liquide surnageant méthanolique clair ou trouble.

Si l'on dispose d'informations sur les excipients et les substances actives contenus dans la préparation liquide orale à analyser, préparer des solutions supplémentaires en dissolvant une quantité appropriée de chacun des composés dans un volume approprié de méthanol et en filtrant si nécessaire.

VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne d'origine parallèle au bord inférieur de la chromatoplate et à environ 1,5 cm de celui-ci. À l'aide de pipettes microcapillaires, appliquer 2 µl de chaque solution de test et d'étalonnage comme indiqué dans l'image de la page suivante. Placer jusqu'à cinq spots sur la plaque, en veillant à ce qu'ils soient circulaires, uniformes et régulièrement espacés. Des intensités variables sont acceptables, mais les diamètres doivent être constants. Si la taille des taches diffère, répétez l'étape.

Sécher doucement les dépôts. Pour ce faire, tenir la plaque chromatographique avec la paire de pincettes dans le flux d'air chaud directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ 10 secondes. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

À l'aide de pipettes graduées appropriées et d'une pipette de transfert, ajouter 17 ml d'acétone, 1 ml de toluène, 1,9 ml d'eau et 2 gouttes de solution d'ammoniaque à 25 % dans le récipient servant de cuve chromatographique. Fermer la chambre et mélanger soigneusement. Border les parois de la cuve avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes, assurant ainsi la saturation de la cuve avec les vapeurs de solvant. Déposer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer. Développer la chromatoplaquette jusqu'à ce que le front du solvant ait parcouru environ les trois quarts de la longueur de la plaque, le temps de développement étant d'environ 12 minutes. Retirer la plaque CCM de la chambre, marquer le front du solvant et laisser l'excès de solvant s'évaporer par séchage doux. Pour ce faire, maintenir la plaque de chromatographie avec les pinces fournies dans le flux d'air chaud directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ une minute. Secouer constamment la plaque CCM et, à chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

X. REVELATION DES TACHES

Colorer la plaque chromatographique développée avec une solution de permanganate de potassium. Préparer la solution en dissolvant 125 mg d'hydroxyde de sodium, 3,7 g de carbonate de sodium anhydre et 1,5 g de permanganate de potassium dans 200 ml d'eau. Une légère turbidité après la dissolution du carbonate de sodium est acceptable. Utilisez le bécher en plastique de 250 ml fourni pour tenir la solution, qui peut plus tard être stockée dans un récipient de laboratoire fermé à température ambiante pendant au moins un mois. Plonger la plaque CCM dans la solution à l'aide de pincettes, la retirer immédiatement, laisser l'excès de solution s'écouler le long du côté gauche de la plaque sur une serviette en papier, et sécher le dos avec un mouchoir en papier. En utilisant le long côté gauche, les stries éventuelles se déplacent dans la direction la moins perturbatrice. Au niveau de chaleur maximum, sécher toute la chromatoplaquette sur une plaque chauffante pendant environ deux à trois minutes, en plaçant trois plaques CCM comme entretoise pour éviter la chaleur directe. Observer les taches de diéthylène et d'éthylène glycol provenant des solutions d'étalonnage et les autres taches provenant des solutions d'essai qui deviennent visibles au fur et à mesure que la solution de permanganate se décolore en raison de la présence de composés oxydables pour révéler des taches jaunâtres à blanches. Lire la plaque CCM une seconde fois après une période de repos d'environ 10 minutes. Le processus peut également être réalisé en vaporisant la solution et en la séchant à l'aide d'un sèche-cheveux, mais les deux procédures nécessitent une pratique répétée pour devenir parfaites. L'essai CCM est valide si des taches de DEG/EG provenant de la solution d'étalonnage à 0,5 % sont visibles. La coloration par immersion est illustrée à la page 36 du manuel principal, et une vidéo correspondante peut être visionnée à l'aide du code QR fourni ici.



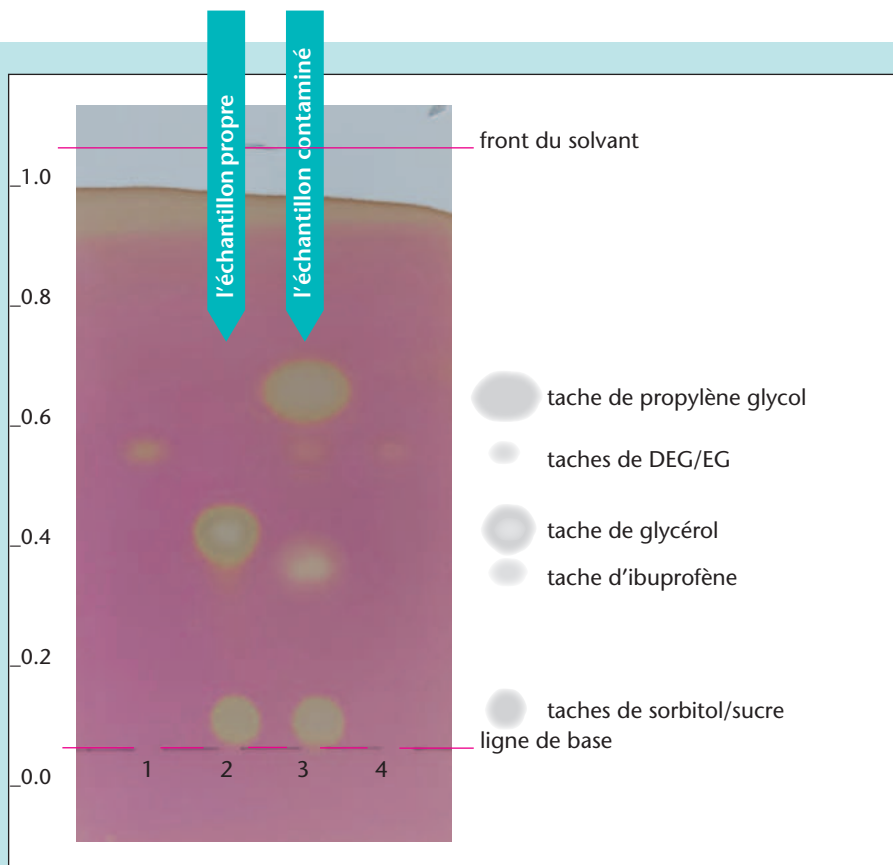
CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION DE PERMANGANATE

Développement n°1:
Solution d'étalonnage de travail 0,5%
(Limite de validité de la méthode/le spot doit être visible)

Développement n°2:
Sirop non-médicinal propre à base de glycérol et de sucre

Développement n°3:
Sirop d'ibuprofène contaminé à base de propylène glycol et de sucre

Développement n°4:
Solution d'étalonnage de travail 0,2%
(Valeur limite DEG/EG)



XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION DE PERMANGANATE

Après coloration avec une solution de permanganate, un fond violet foncé se forme. Les composés sensibles à la solution de visualisation virent au jaune clair ou au blanc, ce qui fait apparaître la plaque CCM comme un négatif. De petites taches jaunâtres à une distance de déplacement d'environ 0,51 indiquent la présence de diéthylène ou d'éthylène glycol ou des deux dépassant la limite. Des taches fortes à différentes distances de déplacement suggèrent d'autres ingrédients: une tache blanche à environ 0,62 indique du propylène glycol, à environ 0,37 du glycérol, à environ 0,30 de l'ibuprofène, et à environ 0,06 près de la ligne de base du sorbitol ou du saccharose. D'autres taches fortes peuvent apparaître en fonction des ingrédients contenus dans le liquide oral. Les taches peuvent se chevaucher en raison de leur proximité ou de leur taille. D'autres excipients contenus dans divers produits finis, tels que les édulcorants artificiels, les conservateurs et les colorants, peuvent ne provoquer aucune tache ou des taches faibles, migrant vers le front du solvant ou restant près de la ligne de base.

XII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

L'essai n'est valable que si le chromatogramme de la solution d'étalonnage à 0,5 % présente une tache de diéthylène/éthylène glycol (DEG/EG). Déterminer la limite de détection en évaluant les taches de DEG/EG dans les chromatogrammes des solutions d'étalonnage à 1%, 0,5 % et 0,2 % lors d'une deuxième analyse. L'échantillon passe clairement le test s'il n'y a pas de tache ou si la tache de DEG/EG est inférieure à la taille de la tache de la solution d'étalonnage à 0,2 %. Bien que cette méthode CCM aide les laboratoires nationaux de contrôle de la qualité des médicaments moins bien dotés en ressources à détecter les produits frelatés, ils devraient envisager des moyens de réduire les faux négatifs, tels que la confirmation des résultats dans des laboratoires collaborateurs ou des centres régionaux utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Les laboratoires disposant d'un équipement de chromatographie en phase gazeuse devraient confirmer les résultats directement par CPG, sans passer par le dépistage de la non-conformité par CCM. Si la contamination par le DEG ou l'EG est confirmée dans les excipients ou les produits finis, il convient d'en informer immédiatement les autorités réglementaires, de mettre en quarantaine les lots concernés et de conserver les échantillons pour référence. Documenter toutes les lectures CCM à l'aide de photos numériques.

Articles supplémentaires nécessaires dans l'inventaire du Minilab

Outre le kit GPHF-Minilab™ existant, les articles suivants doivent être ajoutés à l'inventaire Minilab afin d'exécuter le nouveau protocole d'essai sur les impuretés pour les contaminations par le diéthylène glycol (DG) et l'éthylène glycol (EG).

Les coordonnées pour l'acquisition des kits GPHF-Minilab™ et des articles supplémentaires pour les tests d'impureté DEG/EG sont les suivantes :

Technologie Transfer Marburg (TTM)
Industriestrasse 10
35091 Cölbe, Allemagne
Courriel: ttm@ttm-germany.de
Téléphone: +49-6421-8737-30
Fax: +49-6421-8737-37

Échantillon de contrôle du GPHF-Minilab

Échantillons de référence pour les tests d'impureté

N° de réf.	Article	Qté
AG030206	Diéthylène glycol, 100 g	1
AG030207	Éthylène glycol, 25 g	1

Réactifs et solvants du GPHF-Minilab

Produits chimiques de qualité analytique de provenance commerciale

N° de réf.	Article	Qté
AG010042	Permanganate de potassium, 25 g	1
AG010043	Carbonate de sodium (anhydre), 300 g	1
AG010044	Hydroxyde de sodium (granulé), 100 g	1

* Ce nouveau protocole d'essai GPHF-Minilab™ est basé sur la procédure 'Tests pour le diéthylène glycol et l'éthylène glycol dans les préparations liquides à usage oral', qui a été proposée comme nouveau chapitre à inclure dans 'La Pharmacopée Internationale' le 31 octobre 2023. La version complète de la procédure proposée est accessible via le lien suivant: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/pharmacopoeia/2023-11-16-deg-eg-inliquidoral-dosage-forms-qas22-922rev3.pdf?sfvrsn=284f645d_1 Ce lien vers le document de travail QAS/23.922/rev3 a été consulté pour la dernière fois en juillet 2024.

- Pour détecter les médicaments falsifiés et de qualité inférieure dans les pays à revenu faible ou intermédiaire
- Pour protéger les consommateurs et les chaînes d'approvisionnement en médicaments
- Pour augmenter les capacités d'analyse des médicaments prioritaires
- Pour aider à la surveillance de la qualité des médicaments après leur mise sur le marché
- Pour compléter le travail des laboratoires de contrôle des médicaments existants

Le GPHF-Minilab™

est un laboratoire miniature unique qui propose des méthodes d'essai abordables pour une détection rapide et facile des médicaments falsifiés et de qualité inférieure en tant que technologie d'entrée de gamme pour les établissements de soin de santé aux ressources limitées dans les pays à revenu faible ou intermédiaire.

En plus de vingt-cinq ans de travail sur de projet, le GPHF-Minilab™ a fait ses preuves dans plus de 100 pays.

Cette édition spéciale du manuel Minilab étend le test des ingrédients pharmaceutiques actifs au test des excipients pharmaceutiques. Plus précisément, le test des préparations liquides à usage oral est étendu pour inclure la présence d'agents antigel, par exemple les impuretés de diéthylène et d'éthylène glycol.

L'inventaire des méthodes du manuel GPHF-Minilab™ comprend désormais une collection de méthodes de test pour 119 principes actifs ainsi qu'un test d'impureté pour la vérification rapide de la qualité d'une large gamme de produits pharmaceutiques finis.



Global Pharma Health Fund
www.gphf.org