

Manuel

Accompagnant le GPHF-Minilab™

COVID-19 Numéro spécial
- Dexaméthasone en comprimés
- Dexaméthasone injectable

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



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



COVID-19 NUMÉRO SPÉCIAL

Rédigé par

Richard W. O. Jähnke et Kornelia Dwornik

* * *

Revu par

Sanford Bradby, Tabassum Munira, Shaiful Khan, Stephen Kimatu, Farouk A. Umaru, et Souly Phanouvong

* * *

Publié par

le Global Pharma Health Fund (GPHF), une organisation caritative initiée et gérée par Merck KGaA (Allemagne), et le programme «Promoting the Quality of Medicines Plus» (PQM+), qui est financé par l'Agence Américaine pour le Développement International (USAID) et mis en œuvre par l'United States Pharmacopeial Convention (USP).

* * *

Copyright © par GPHF

* * *

Le projet GPHF-Minilab™

La prolifération de médicaments de qualité inférieure et falsifiés constitue une grave menace pour la santé. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'une proportion inquiétante de dix pour cent de tous les médicaments disponibles dans les pays en développement sont déjà soit falsifiés, soit de mauvaise qualité. La lutte contre les médicaments falsifiés permettra d'éviter que des décennies d'investissements dans les soins de santé ne soient réduites à néant par un manque de vigilance.

Compte tenu de la prévalence des médicaments contrefaits et de mauvaise qualité dans le monde entier, dont la charge est la plus lourde dans les pays en développement, le Global Pharma Health Fund (GPHF), une organisation à but non lucratif soutenue uniquement par Merck KGaA, a mis au point et fournit de manière rentable le GPHF-Minilab™, un mini-laboratoire pour la détection des médicaments falsifiés et de qualité inférieure.

Pendant de nombreuses années, les Minilabs du GPHF ont servi de première ligne de défense contre les médicaments contrefaits et de mauvaise qualité qui menacent la santé de millions de personnes dans les pays en développement. Au total, plus de 900 Minilabs ont été livrés à près de 100 pays dans les régions d'Afrique, d'Asie-Pacifique et d'Amérique latine.

Les GPHF-Minilabs sont généralement utilisés pour le contrôle de la qualité médicale dans le cadre d'une surveillance fondée sur les risques après la mise sur le marché, lors des contrôles aux frontières à des fins d'inspection, au sein de la chaîne d'approvisionnement et au point de soins/distribution pour la diligence raisonnable, etc. Les Minilabs sont portables, faciles à utiliser, rentables, ne nécessitent qu'une formation minimale et fournissent des résultats rapides pour l'identification, la quantification et la désintégration. Les GPHF-Minilabs ne remplacent pas les tests de laboratoire intégral. Ils utilisent plutôt leur technologie pour identifier les médicaments défectueux en vue d'une analyse complète en laboratoire, ce qui est devenu la meilleure pratique établie pour les technologies de dépistage.

L'inventaire des méthodes des Minilabs comprend actuellement 100 ingrédients pharmaceutiques actifs dans leurs produits finis respectifs pour le traitement des maladies transmissibles et non transmissibles, par exemple les antibiotiques, les antituberculeux, les antipaludiques, les antiviraux, les antidiabétiques, les anthiasthmatiques, les analgésiques et les médicaments cardiovasculaires et gastro-intestinaux. Ils sont maintenant rejoints par la dexaméthasone utilisée pour soulager certains symptômes observés dans les cas graves de COVID-19.

Les principaux partenaires de mise en œuvre sont les autorités nationales de réglementation de la santé et des médicaments, ainsi que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et le programme «Promoting the Quality of Medicines Plus» de l'USAID. Les données générées par le GPHF-Minilab™ ont efficacement mis en évidence les faux médicaments antipaludéens et antibactériens sans principe actif et ont déclenché à plusieurs reprises des alertes mondiales sur les produits médicaux de l'OMS. Les Minilabs sauvent des vies.

COVID-19 augmente le besoin non satisfait pour un contrôle de la qualité des médicaments peu sophistiqué et abordable dans les pays à faible revenu. C'est le moteur du développement de nouveaux protocoles de test GPHF-Minilab™ pour les comprimés et les injections de dexaméthasone aujourd'hui. La nécessité d'augmenter le nombre de tests souligne également l'importance de la collaboration, par exemple avec nos partenaires de mise en œuvre basés aux États-Unis.

* * *

Œuvre d'art graphique par

Grimm Graphic Design, Ochsenfurt, Allemagne

Table des matières

Chapitre	Page
Table des matières	3
Santé et sécurité	3
Nouveaux protocoles d'essai pour du Minilab	4
7.101 Dexaméthasone en comprimés	4
7.102 Dexaméthasone-21-phosphate en tant que sel disodique pour les solutions injectables	8

Santé et sécurité

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 afin d'éviter des risques possibles pour la santé, résultant d'un contact accidentel avec ces substances ou avec les produits pharmaceutiques.

Les produits chimiques et pharmaceutiques doivent être manipulés avec précaution afin

d'éviter la production excessive de poussières 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, rincer

abondamment à l'eau, communiquer l'incident au responsable et, si nécessaire, au médecin local pour de plus amples soins.

Utiliser 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.

7.101 Dexaméthasone en comprimés

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 publié en 2020. Inscrire les résultats. Prendre éventuellement des photos avec un appareil photo de smartphone. Chaque comprimé contient généralement 2, 4 ou 8 mg de dexaméthasone par base libre. Il existe d'autres dosages connus. Vérifier le poids total des comprimés à l'aide de la balance électronique de poche fournie. Toutes les for-

mulations de comprimés de dexaméthasone à libération rapide doivent également passer le test de désintégration décrit dans le manuel principal. Elles doivent se désintégrer dans de l'eau à 37°C en moins de 30 minutes. C'est un défaut majeur si une formulation à libération instantanée ne réussit pas ce test.

II. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les médicaments d'origine 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, ainsi que les produits pharmaceutiques stockés dans de mauvaises conditions, doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

* Le test physique comprend l'inspection visuelle et la vérification de certaines propriétés physiques du produit, y compris la désintégration.

Vérification de l'identité et de la teneur en principe actif via le test de CCM

I. PRINCIPE DU TEST

La dexaméthasone est extraite de comprimés à l'aide d'un volume de méthanol connu et dont l'identité et le contenu sont ensuite vérifiés par la chromatographie sur couche mince (CCM) en référence à une substance témoin appropriée.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|--|--|
| 1) Pilon | 15) Papier filtre |
| 2) Feuille d'aluminium | 16) Paire de ciseaux |
| 3) Entonnoir | 17) Paire de pincettes |
| 4) Spatule | 18) Lampe UV de 254 nm |
| 5) Bande adhésive | 19) Lampe UV de 366 nm |
| 6) Stylo feutre | 20) Cuve d'immersion
(bêcher plastique de 250 ml) |
| 7) Crayon et règle graduée | 21) Eau distillée ou potable |
| 8) Fioles de verre de 10 ml | 22) Méthanol |
| 9) Kit de pipettes graduées
(1 à 25 ml) | 23) Acétone |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire
(25 à 100 ml) | 24) Acétate d'éthyle |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck
pré-enduites au gel de silice 60 F ₂₅₄ ,
taille 5 x 10 cm | 25) Solution d'acide sulfurique à 96% |
| 12) Tubes capillaire de verre
de 2 µl de capacité | 26) Substance témoin, par exemple,
la dexaméthasone en comprimés
de 8 mg |
| 13) Cuve chromatographique
(récipient de 500 ml) | |
| 14) Plaque chauffante | |

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 8 mg de dexaméthasone: 1) Envelopper le comprimé dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre en utilisant un pilon. 2) Verser le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de 25 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 8 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. 3) Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des solides. 4) Laisser reposer pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 1 mg de dexaméthasone totale par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Dexaméthasone'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. 5) Continuer à travailler avec le liquide clair ou même trouble.

<p>IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMITE SUPERIEURE)</p>	<p>La solution témoin du stock ne nécessite pas de dilution supplémentaire. Elle constitue déjà la concentration d'usage finale d'1 mg de dexaméthasone totale par ml. Pour faciliter la manipulation, une partie du liquide de surface peut être transférée dans une fiole de 10 ml.</p> <p>Cette solution d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de dexaméthasone.</p>
<p>V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMITE INFÉRIEURE)</p>	<p>A l'aide des pipettes graduées appropriées, introduire 4 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,8 mg de dexaméthasone totale par ml et être étiquetée en tant que '<i>Solution Témoin d'Usage de Dexaméthasone 80%</i>'.</p> <p>Cette solution témoin d'usage inférieure représente un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de la quantité de dexaméthasone indiquée sur l'étiquette du produit. Dans l'analyse présente, ce niveau de teneur en substance active représente la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné. Les limites de la pharmacopée ne s'appliquent pas dans notre contexte.</p>
<p>VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK A PARTIR D'UNE PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 2 MG DE DEXAMETHASONE PAR COMPRIME</p> <p>4 MG DE DEXAMETHASONE PAR COMPRIME</p> <p>8 MG DE DEXAMETHASONE PAR COMPRIME</p>	<p>Prendre deux comprimés entiers d'un produit pharmaceutique approprié provenant du terrain. Comme d'habitude, envelopper-les dans une feuille d'aluminium et réduire-les en une fine poudre. Transférer toute la poudre obtenue dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml. Pour l'extraction, ajouter 4 ml de méthanol à l'aide d'une pipette graduée. Fermer le flacon et agiter pendant environ trois minutes jusqu'à ce que la plupart des solides soient dissous. Laisser reposer la solution pendant cinq minutes supplémentaires jusqu'à ce que le résidu non dissous se dépose sous le liquide surnageant.</p> <p>Transférer la poudre obtenue à partir d'un comprimé d'échantillon entier dans un flacon de laboratoire en verre de 25 ml, ajouter 4 ml de méthanol à l'aide d'une pipette graduée et extraire la dexaméthasone. Continuez à travailler comme ci-dessus.</p> <p>Transférer la poudre obtenue à partir d'un comprimé d'échantillon entier dans un flacon de laboratoire en verre de 25 ml, ajouter 8 ml de méthanol à l'aide d'une pipette graduée et extraire la dexaméthasone. Continuez à travailler comme ci-dessus.</p> <p>Toutes les solutions produites doivent contenir finalement 1 mg de dexaméthasone totale par ml et être étiquetées comme '<i>Solution Essai du Stock de Dexaméthasone</i>'. Préparer ces solutions fraîchement pour chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles.</p>
<p>VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE</p>	<p>Les solutions essai du stock de dexaméthasone ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Elles constituent déjà la concentration d'usage finale d'1 mg de dexaméthasone totale par ml. Si elle est préparée à partir d'un produit de haute qualité, la solution essai d'usage doit égaler la concentration de dexaméthasone de la solution témoin d'usage supérieure comme ci-dessus. Pour faciliter la manipulation, une partie du liquide de surface peut être transférée dans une fiole de 10 ml.</p>
<p>VIII. DEPOT D'ECHANTILLON</p>	<p>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.</p> <p>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. Toutes les taches d'échantillon doivent être rondes de forme et également réparties sur la ligne de base. Bien qu'elles puissent différer en intensité,</p>

elles 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.

Sécher doucement les taches. Pour cela, tenir la plaque de chromatographie avec la paire de pincettes fournie pendant environ 30 secondes dans le courant d'air chaud juste au-dessus de la plaque chauffante. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la plaque de chromatographie se rabat, elle peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées appropriées, introduire 20 ml d'acétate d'éthyle, 2 ml d'acétone et 0,2 ml d'eau dans le récipient utilisé comme cuve chromatographique. Fermer la cuve et agiter fermement. Border les parois de la cuve à l'aide de papier filtre et attendre 15 minutes environ afin d'assurer la saturation de la chambre par les vapeurs de solvant. Placer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve. Fermer la cuve et procéder au développement de la plaque chromatographique jusqu'à ce que le front du solvant ait atteint les trois-quarts environ de la longueur de la plaque; la durée de développement est de 10 minutes environ. Retirer la plaque de la chambre, marquer la ligne de front du solvant et faire évaporer tout excès de solvant. Pour cela, tenir la chromatoplaque avec la paire de pincettes fournie pendant environ deux minutes dans le courant d'air chaud juste au-dessus de la plaque chauffante. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la plaque de chromatographie se rabat, elle peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

X. REVELATION DES TACHES

Sécher tout solvant résiduel et observer la chromatoplaque sous une lumière UV de 254 nm à l'aide de la lampe à piles fournie, de préférence dans une pièce sombre. Utiliser cette méthode de détection à des fins d'identification et de quantification.

Pour une identification et une semi-quantification plus poussées, colorer la chromatoplaque avec de l'acide sulfurique dans la chaleur. Pour ce faire, remplir le béccher en plastique de 250 ml fourni avec 190 ml de méthanol suivi de 10 ml de solution d'acide sulfurique concentré à 96 % et mélanger doucement. Laisser le mélange refroidir et plonger la plaque chromatographique dans la solution de coloration à l'aide d'une pincette. Retirer immédiatement la plaque de la solution et égoutter tout excès de liquide sur une serviette en papier. Essuyer le liquide restant à l'arrière de la plaque et continuer à sécher toute la solution de coloration sur la plaque chauffante fournie. Pendant le chauffage, les taches de dexaméthasone et les taches d'autres corticostéroïdes apparentés deviendront progressivement visibles à la lumière du jour. Noter que la procédure de coloration avec une solution d'acide sulfurique est très similaire à celle décrite avec la ninhydrine à la page 36 du manuel principal. Après avoir lu la chromatoplaque à la lumière du jour, une vérification supplémentaire de l'identité et du contenu de la dexaméthasone peut être effectuée si la chromatoplaque est exposée à une lumière UV de 366 nm dans une pièce sombre.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

La présence de dexaméthasone dans la solution essai est signalée par une tache bleu-violet à une distance de déplacement d'environ 0,44. Des taches foncées supplémentaires générées par la solution essai indiquent la présence d'autres substances actives ou une détérioration de dexaméthasone; ce dernier cas est plus probable lorsque les taches sont accompagnées d'une tache principale plus petite. Une tache principale plus petite provenant de la solution essai peut indiquer aussi une faible teneur en dexaméthasone; l'absence de tache indique même une absence totale de dexaméthasone. Des agents auxiliaires inclus dans les différents produits finis peuvent générer quelques taches plus faibles se déplaçant le long du front de solvant ou apparaissant près ou sur la ligne de base. Les autres corticostéroïdes apparentés sont clairement séparés de la tache de dexaméthasone et leurs facteurs de rétention relatifs sont les suivants: environ 0,36 pour la prednisone, environ 0,32 pour la prednisolone, environ 0,34 pour la méthylprednisolone et environ 0,37 pour l'hydrocortisone. Au fait, le phosphate de dexaméthasone ne bougerait pas du tout et resterait à la ligne de base.

CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA
LUMIERE UV DE 254 NM

Développement n°1:

Solution témoin supérieure représentant
100% de dexaméthasone totale

Développement n°2:

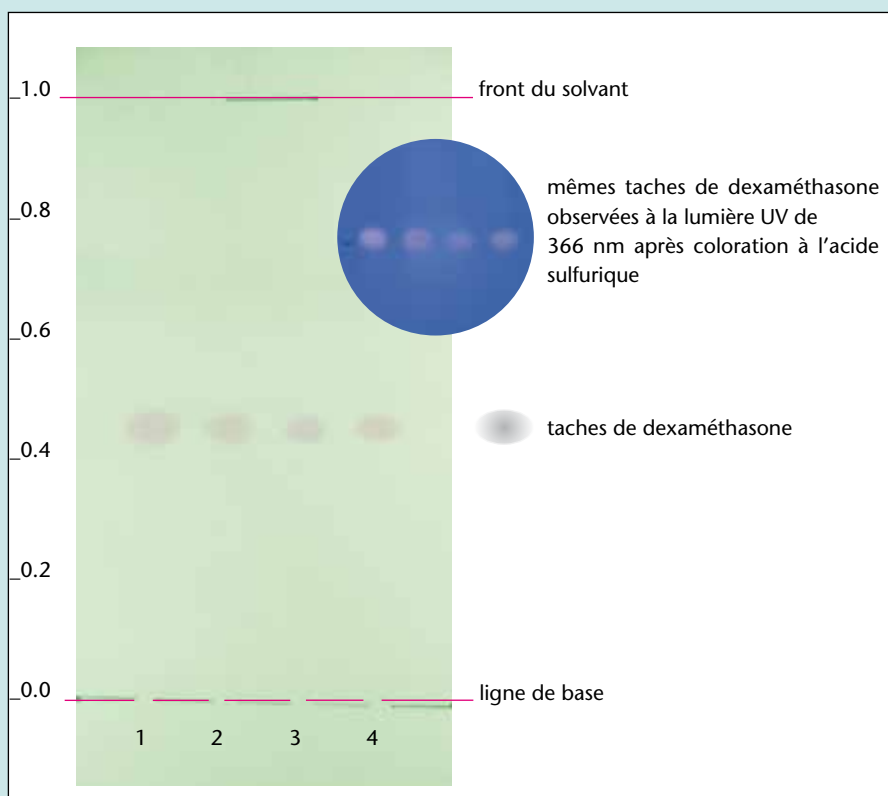
Un médicament de bonne qualité à teneur
acceptable en dexaméthasone

Développement n°3:

Un médicament de basse qualité à teneur
faible inacceptable en dexaméthasone

Développement n°4:

Solution témoin inférieure représentant
80% de dexaméthasone totale



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

Avec une exposition supplémentaire de la plaque de chromatographie à l'acide sulfurique et à la chaleur, les taches de dexaméthasone observées précédemment à 254 nm deviennent grises, avec des intensités différentes indiquant des concentrations de médicaments différentes. D'autres corticostéroïdes apparentés se comportent de manière très similaire, à l'exception de l'hydrocortisone, qui devient ici jaune sale.

XIII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV
DE 366 NM APRES COLORATION A
L'ACIDE SULFURIQUE

Lorsque la plaque colorée avec d'acide sulfurique est exposée à une lumière UV de 366 nm dans une pièce sombre, la dexaméthasone et chaque tache d'autres corticostéroïdes apparentés présentent maintenant des variations d'une très faible couleur rose foncé à bleu foncé profond, à l'exception de l'hydrocortisone, qui présente ici une fluorescence blanche. Quoi qu'il en soit, la dexaméthasone, avec son facteur de rétention relatif important d'environ 0,44, voyage en tête de tous les autres corticostéroïdes.

XIV. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de dexaméthasone 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. Rejeter 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 résultat précis quant à la teneur en substance active. 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 de toutes les lectures avec un appareil-photo numérique; éteindre d'abord le flash.

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 publié en 2020. Inscrire les résultats. Prendre éventuellement des photos avec un appareil photo de smartphone. Chaque millilitre de solution stérile contient généralement environ 3,3 mg de dexaméthasone (sous forme de phosphate disodique), ce qui équivaut à environ 4 mg de dexaméthasone-21-phos-

phate ou environ 4,37 mg de sel disodique de dexaméthasone-21-phosphate. On sait qu'il existe d'autres dosages, par exemple, le dosage figurant dans la liste actuelle de l'OMS des médicaments essentiels pour adultes ou enfants est de 4 mg de dexaméthasone par base libre (sous forme de phosphate disodique) par ml. Le contenu aqueux des ampoules et des flacons de phosphate de dexaméthasone semble clair et incolore et ne présente aucune matière/particules étrangères. Si ce n'est pas le cas, il s'agit d'une anomalie majeure.

II. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les médicaments d'origine 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, ainsi que les produits pharmaceutiques stockés dans de mauvaises conditions, doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

Vérification de l'identité et de la teneur en principe actif via le test de CCM

I. PRINCIPE DU TEST

Les solutions injectables contenant du phosphate de dexaméthasone sodique sont diluées avec un volume d'eau connu et l'identité et la teneur en phosphate de dexaméthasone sont ensuite vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) en référence à une solution de contrôle appropriée.

Note importante: le sel de phosphate sodique de dexaméthasone est hygroscopique et très instable à température ambiante et donc déjà difficile à manipuler en laboratoire intégral et presque impossible à manipuler sur le terrain comme substance témoin. Lorsque l'on compare des produits pharmaceutiques finis entre eux pour contourner les problèmes de stabilité observés avec les étalons de référence solides, il faut veiller à ce que les solutions de référence et les échantillons aient exactement la même teneur en phosphate de dexaméthasone. Par exemple, les échantillons de produits contenant 4 mg de phosphate de dexaméthasone (équivalent à environ 4,37 mg de phosphate sodique de dexaméthasone) par ml de solution injectable ne peuvent être comparés qu'avec des solutions de référence contenant également 4 mg de phosphate de dexaméthasone par ml de liquide d'injection. Les solutions injectables de dexaméthasone prêtes à l'emploi peuvent généralement être stockées dans leur emballage d'origine à l'abri de la lumière à 25 °C pendant environ deux à trois ans. Seules les instructions de stockage et la date d'expiration figurant sur l'étiquette sont applicables.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|---|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 1) Stylo feutre 2) Band adhésive 3) Crayon et règle graduée 4) Fioles de verre de 10 ml 5) Kit de pipettes graduées (1 à 25 ml) 6) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 à 100 ml) 7) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F₂₅₄ taille 5 x 10 cm 8) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité 9) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml) 10) Plaque chauffante 11) Papier filtre 12) Paire de ciseaux 13) Paire de pincettes 14) Lampe UV de 254 nm 15) Lampe UV de 366 nm | <ol style="list-style-type: none"> 16) Cuve d'immersion (bêcher plastique de 250 ml) 17) Eau distillée ou potable 18) Méthanol 19) Butan-1-ol 20) Solution d'acide acétique à 96% 21) Solution d'acide sulfurique à 96% 22) Solution témoin, par exemple, 8 mg de phosphate de dexaméthasone en ampoules de 2 ml chaque millilitre contenant 4 mg de phosphate de dexaméthasone ou 4,37 mg de sel disodique de phosphate de dexaméthasone |
|---|--|

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, un médicament authentique est requis comme référence, par exemple, du phosphate de dexaméthasone en ampoules de 8 mg provenant de sources réputées et contenant 2 ml de solution injectable, chaque ml contenant 4 mg de phosphate de dexaméthasone: 1) Avant d'ouvrir l'ampoule, secouer et tapoter vigoureusement plusieurs fois l'ampoule sur une surface molle, par exemple un livre, afin que le liquide contenu dans la tête de l'ampoule coule et se combine avec le liquide contenu dans le corps de l'ampoule. 2) Casser ensuite la tête de l'ampoule vide et transférer la totalité de la solution du corps de l'ampoule dans un flacon de laboratoire en verre de 10 ml. 3) Pour faire passer la solution à travers le col étroit de l'ampoule, il peut être utile de relier sans serrer le col ouvert de l'ampoule à l'ouverture du flacon de laboratoire et d'agiter vigoureusement de haut en bas cette construction, l'ampoule reposant à l'envers sur le flacon de laboratoire. 4) Fermer le flacon de laboratoire une fois que le transfert de la solution est terminé. Malheureusement, la simple décantation ne fonctionne pas. 5) Étiqueter comme '*Solution Témoin du Stock de Phosphate de Dexaméthasone/PD*'. Aucune autre dilution n'est nécessaire.

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

A l'aide des pipettes graduées appropriées, introduire 1 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 7 ml d'eau. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,5 mg de phosphate de dexaméthasone total par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin d'Usage de PD 100%*'. Préparer cette solution fraîchement pour chaque test. Continuer à travailler avec la solution claire diluée.

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

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

A l'aide des pipettes graduées appropriées, introduire 0,5 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 4,5 ml d'eau. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,4 mg de phosphate de dexaméthasone total par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin d'Usage de PD 80%*'.

Cette solution témoin d'usage inférieure représente un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de la quantité de phosphate de dexaméthasone indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en phosphate de dexaméthasone représente la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné. Les limites de la pharmacopée ne s'appliquent pas dans notre contexte.

VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 4 MG DE PHOSPHATE DE DEXAMETHASONE PAR FLACON/AMPOULE DE 1 ML

Prendre une ampoule de 4 mg et vérifier d'abord que la teneur en phosphate de dexaméthasone indiquée sur l'étiquette est la même entre l'échantillon et la solution de contrôle. Transférer ensuite la totalité du contenu liquide dans un flacon de verre de laboratoire de 10 ml de la même manière que celle décrite ci-dessus pour l'ampoule de référence. Prélever 0,5 ml de solution d'injection dans le flacon de laboratoire à l'aide d'une pipette graduée appropriée et combiner avec 3,5 ml d'eau dans un second flacon de laboratoire de 10 ml. Fermer, agiter et étiqueter. Noter que la manipulation des flacons est beaucoup plus facile que celle des ampoules, car il est possible de pipeter directement à travers l'ouverture de ceux-ci sans avoir à utiliser un flacon de laboratoire.

8 MG DE PHOSPHATE DE DEXAMETHASONE PAR FLACON/AMPOULE DE 2 ML

Prendre une ampoule de 8 mg et vérifier d'abord que la teneur en phosphate de dexaméthasone indiquée sur l'étiquette correspond parfaitement à l'échantillon et à la solution de contrôle. Transférer ensuite la totalité du contenu liquide dans un flacon de verre de laboratoire de 10 ml de la même manière que celle décrite ci-dessus pour l'ampoule de référence. Prélever 1 ml de solution d'injection dans le flacon de laboratoire à l'aide d'une pipette graduée appropriée et combiner avec 7 ml d'eau dans un second flacon de laboratoire de 10 ml. Fermer, agiter et étiqueter. Noter que la manipulation des flacons est beaucoup plus facile que celle des ampoules, car il est possible de pipeter directement à travers l'ouverture de ceux-ci sans avoir à utiliser un flacon de laboratoire.

Toutes les solutions produites doivent finalement contenir 0,5 mg de phosphate de dexaméthasone total par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de PD*'. Préparer ces solutions fraîchement pour chaque test. Continuer à travailler avec les solutions claires diluées.

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

Les solutions essai du stock de phosphate de dexaméthasone ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Elles constituent déjà la concentration d'usage finale de 0,5 mg de phosphate de dexaméthasone total par ml. Si elle est préparée à partir d'un produit de haute qualité, la solution essai d'usage doit égaler la concentration de dexaméthasone de la solution témoin d'usage supérieure comme 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. Toutes les taches d'échantillon doivent être rondes de forme et également réparties sur la ligne de base. Bien qu'elles puissent différer en intensité, elles 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.

Sécher doucement les taches. Pour cela, tenir la plaque de chromatographie avec la paire de pincettes fournie pendant environ deux minutes dans le courant d'air chaud juste au-dessus de la plaque chauffante. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la plaque de chromatographie se rabat, elle peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 12 ml de butan-1-ol, 4 ml d'eau et 4 ml de solution d'acide acétique à 96% dans le bocal utilisé comme cuve chromatographique. La phase mobile prise est la même que dans l'édition 10.0 de la Pharmacopée européenne. Fermer la chambre et mélanger soigneusement. Tapisser la paroi de la chambre avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes pour assurer la saturation de la chambre avec les vapeurs de solvant. Placer avec précaution la plaque CCM chargée dans le bocal. Fermer le bocal et **développer la plaque chromatographique jusqu'à ce que le front du solvant se soit déplacé d'environ cinquante pour cent (!) de la longueur totale de la plaque, avec un temps de développement d'environ 30 minutes**. Lorsque le temps de développement est porté à 60 minutes, la diffusion moléculaire commence à affecter la forme des taches de phosphate de dexaméthasone. Retirer la plaque CCM de la chambre, marquer le front de solvant et laisser l'excès de solvant s'évaporer de la plaque chromatographique. L'acide acétique et le n-butanol sont des solvants à faible volatilité dont la plaque chauffante est normalement utilisée pour l'évaporation de la plaque CCM sur une plus longue période. D'autre part, les taches de phosphate de dexaméthasone sont très sensibles à la chaleur et la plaque CCM ne doit pas être surchauffée. Il faut donc laisser la phase mobile résiduelle s'évaporer pendant environ 30 secondes en plaçant la plaque CCM directement sur la plaque chauffante fournie, puis continuer à sécher la plaque chromatographique pendant environ quatre minutes dans le courant d'air chaud directement au-dessus de la plaque chauffante à l'aide des pinces fournies. Pour ce faire, secouer constamment la plaque chromatographique et, à chaque fois que la plaque CCM se retourne, elle doit également toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde. N'oublier pas que toute surchauffe entraînera la disparition des taches de phosphate de dexaméthasone. La plaque CCM peut également être séchée à l'aide d'un sèche-cheveux.

X. REVELATION DES TACHES

Sécher tout solvant résiduel et observer la chromatoplaque sous une lumière UV de 254 nm à l'aide de la lampe à piles fournie, de préférence dans une pièce sombre. Utiliser cette méthode de détection à des fins d'identification et de quantification.

Pour une identification et une semi-quantification plus poussées, il faut colorer la chromatoplaque à la chaleur avec de l'acide sulfurique. Pour ce faire, remplir le bécher en plastique de 250 ml fourni avec 190 ml de méthanol suivi de 10 ml de solution d'acide sulfurique à 96 % et mélanger doucement. Laisser le mélange refroidir et plonger la plaque de chromatographie dans la solution de coloration à l'aide d'une pincette. Retirer immédiatement la plaque de la solution et laisser tout le liquide en excès s'égoutter sur une serviette en papier. Essuyer le liquide restant à l'arrière de la plaque et procéder au séchage de toute la solution de coloration sur la plaque chauffante fournie. Pendant le chauffage, toutes les taches de phosphate de dexaméthasone deviendront progressivement visibles à la lumière du jour après environ une minute. Après avoir lu la plaque chromatographique à la lumière du jour, une vérification supplémentaire de l'identité et de la teneur en phosphate de dexaméthasone peut être effectuée en exposant la plaque CCM à une lumière UV de 366 nm dans une pièce sombre.

CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Développement n°1:

Solution témoin supérieure représentant 100% du phosphate de dexaméthasone total

Développement n°2:

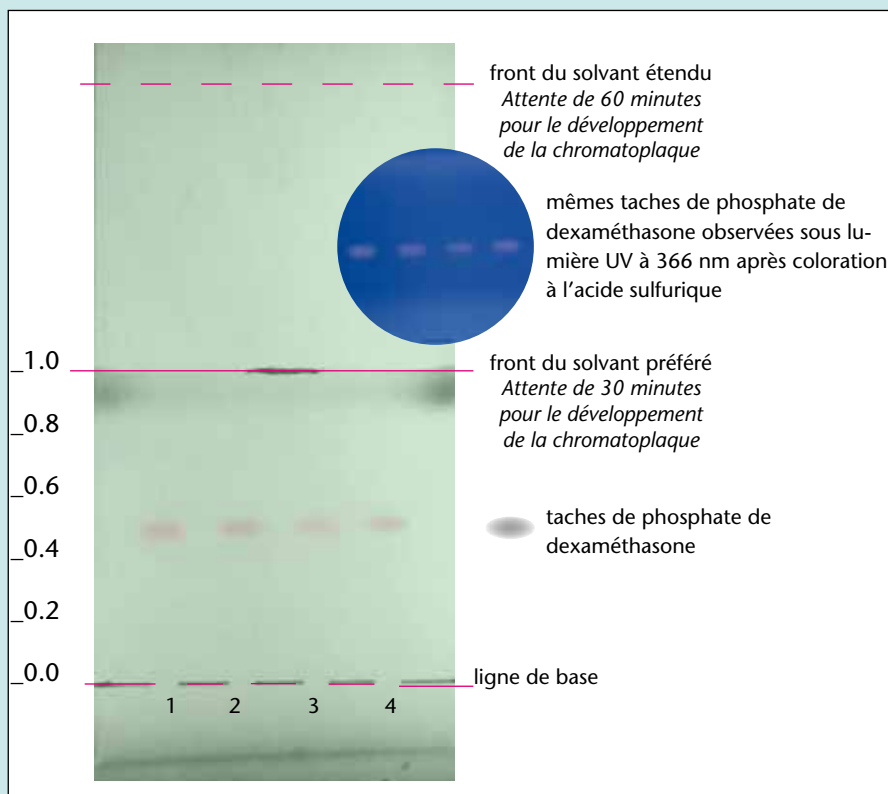
Un médicament de bonne qualité à teneur acceptable en phosphate de dexaméthasone

Développement n°3:

Un médicament de basse qualité à teneur faible inacceptable en phosphate de dexaméthasone

Développement n°4:

Solution témoin inférieure représentant 80% du phosphate de dexaméthasone total



XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

La présence de phosphate de dexaméthasone dans la solution essai est signalée par une tache bleu-violet à une distance de déplacement d'environ 0,49. Des taches foncées supplémentaires générées par la solution essai indiquent la présence d'autres substances actives ou une détérioration de phosphate de dexaméthasone; ce dernier cas est plus probable lorsque les taches sont accompagnées d'une tache principale plus petite. Une tache principale plus petite provenant de la solution essai peut indiquer aussi une faible teneur en phosphate de dexaméthasone; l'absence de tache indique même une absence totale de phosphate de dexaméthasone. Des agents auxiliaires inclus dans les différents produits finis peuvent générer quelques taches plus faibles se déplaçant le long du front de solvant ou apparaissant près ou sur la ligne de base. Juste pour information: Si la dexaméthasone était présente sous la forme de sa base libre, elle parcourrait une distance d'environ 0,87.

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

Après une nouvelle exposition de la plaque chromatographique à l'acide sulfurique et à la chaleur, les taches de phosphate de dexaméthasone précédemment observées à 254 nm deviennent grises, avec des intensités différentes indiquant des concentrations de médicaments différentes.

XIII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 366 NM APRES COLORATION A L'ACIDE SULFURIQUE

Après une nouvelle exposition de la plaque chromatographique colorée avec d'acide sulfurique à une lumière UV de 366 nm dans une chambre obscure, les taches de phosphate de dexaméthasone présentent une faible fluorescence gris-rougeâtre.

XIV. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache du phosphate de dexaméthasone dans le 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. Rejeter 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 résultat précis quant à la teneur en substance active. 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 de toutes les lectures avec un appareil-photo numérique; éteindre d'abord le flash.

- 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 ans de travail de projet, le GPHF-Minilab™ a fait ses preuves dans près de 100 pays.

Ce supplément est un numéro spécial sur le médicament prioritaire dexaméthasone pour le soulagement des symptômes dans les cas graves de COVID-19 à l'hôpital.

L'inventaire des méthodes du manuel principal du GPHF-Minilab, publié en 2020, consiste en une collection de procédures de test pour plus de 100 ingrédients pharmaceutiques actifs pour la vérification rapide de la qualité médicale pour une large gamme de produits pharmaceutiques finis.



Global Pharma Health Fund
www.gphf.org