

Contrôle qualité d'un médicament après suspicion de contamination microbienne

Contexte de la situation d'évaluation et activités à réaliser

A la suite de la mise en évidence de la présence de taches brun-jaune sur des comprimés de « Paracétamol 500 mg » (lot 30052012, date de péremption septembre 2014), un laboratoire pharmaceutique en accord avec l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) a procédé au retrait du lot concerné. Il recommande aux patients de ne pas utiliser le lot de « Paracétamol 500 mg » incriminé et de rapporter la(les) boîte(s) à leur pharmacien.

Une série d'analyses microbiologiques a permis d'identifier la présence d'une contamination par une moisissure.

Dans le cadre de ce contrôle qualité du médicament, il faut :

- 1) vérifier la teneur en paracétamol contenu dans le médicament en suivant la Fiche protocole 1 page 2 ;
- 2) rechercher la nature du contaminant microbien isolé en suivant la Fiche protocole 2 page 3.

Accessibilité des ressources scientifiques et techniques

Documents mis à disposition dans ce dossier :

- *Fiches protocoles*
 - o Fiche protocole 1 : Dosage du paracétamol d'un médicament (page 2)
 - o Fiche protocole 2 : Observation microscopique d'une moisissure (page 3)
- *Ressources bibliographique associées aux techniques microbiologiques et biochimiques mises en œuvre :*
 - o Annexe 1 : Spectre du paracétamol (page 4)
 - o Annexe 2 : Procédure d'interprétation d'une gamme d'étalonnage en deux points (page 5)
 - o Annexe 3 : Logigramme de traitement des données expérimentales (page 6)
 - o Annexe 4 : Schémas d'organes de fructification de moisissures (page 7)
 - o Annexe 5 : Fiche de donnée de sécurité du bleu de lactophénol (page 8)

Travail préparatoire et d'exploitation

Justifier le choix de la longueur d'onde de lecture lors du dosage du paracétamol.

Expliquer la réalisation de la dilution au 4/50 du cachet de médicament « Paracétamol 500 mg » introduit dans 100 mL d'eau désionisée.

Justifier la concentration en paracétamol obtenue dans le tube 1.

Préciser les règles de sécurité à appliquer pour la manipulation des moisissures.

Indiquer la gestion de la lame portant la moisissure après son observation.

A partir des données de la fiche de sécurité du bleu de lactophénol, préciser les mesures de précaution à prendre lors de sa manipulation

FICHE PROTOCOLE 1

Dosage du paracétamol par méthode spectrophotométrique

Le dosage du paracétamol dans le médicament est basé sur une méthode spectrophotométrique. Le mesurande à vérifier sera la masse de paracétamol dans un cachet. Le principe de mesure est basé sur la propriété d'absorbance de la lumière UV du paracétamol. Le spectre d'absorption du paracétamol est donné en annexe n°1.

1- Echantillon à analyser

1 cachet de médicament « Paracétamol 500 mg » introduit dans 100 mL d'eau désionisée puis dilué au 4/50 étiqueté « P (4/50) »

2- Réactifs et matériel

Solution étalon de paracétamol à $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ étiquetée « SEP »
Cuves UV
Spectrophotomètre

3- Mode opératoire

Une gamme d'étalonnage en deux points est réalisée en cuve sur un volume final de 500 μL :

- 1 point à $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ réalisé trois fois,
- 1 point à $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ réalisé trois fois.

La gamme sera réalisée selon le tableau ci-dessous :

Cuves	0	1	2	3	4	5	6	E1	E2
SEP (μL)	0	50	50	50	20	20	20	-	-
P (4/50) (μL)	0	0	0	0	0	0	0	50	50
Eau désionisée (μL)	500	450	450	450	480	480	480	450	450
$\rho_{\text{paracétamol}}$ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0	50	50	50	20	20	20		
Absorbance à 240 nm									

4- Résultats et compte rendu

Donner les mesures d'absorbance pour la gamme d'étalonnage et les essais (échantillon à analyser : « P (4/50) »).

Selon l'annexe n°3, vérifier la répétabilité des absorbances pour chacun des deux points de la gamme sachant que :

- $s_r = 0,015$ pour le point haut de la gamme,
- $s_r = 0,009$ pour le point bas de la gamme.

Tracer la courbe de la variation de l'absorbance en fonction de $\rho_{\text{paracétamol}}$ en $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Déterminer graphiquement la concentration en paracétamol du médicament dilué au 4/50 pour chacun des essais.

Calculer la quantité de paracétamol dans un comprimé d'un lot 30052012 sachant que :

- $s_r = 6 \text{ mg}$.

Pour cela, donner l'équation aux grandeurs et l'équation aux unités avant de faire le calcul.
Conclure.

FICHE PROTOCOLE 2

Recherche d'une contamination dans un lot de « Paracétamol 500 mg »

Des prélèvements sur les comprimés de « Paracétamol 500 mg » incriminés ont été réalisés par un technicien de laboratoire au niveau des taches brun-jaune. Ils ont permis d'isoler une souche de moisissure sur gélose Sabouraud.

1. Echantillon à analyser

Isolement de la souche de moisissure après incubation 4 jours à 25°C sur gélose Sabouraud étiqueté avec le numéro du lot incriminé « Lot n°30052012 »

2. Réactifs et matériel

Ruban adhésif + 1 paire de ciseaux pointe fine
Lames de microscope et lamelles couvre-objet 22 x 32 mm
Bleu de lactophénol
Spatule
Microscope photonique

3. Mode opératoire

A partir de l'isolement du contaminant présenté sur gélose Sabouraud « Lot n°30052012 » incubée 4 jours à 25°C, réaliser :

- un examen macroscopique ;
- un examen microscopique par la technique du drapeau :
 - travailler en conditions aseptiques ;
 - coller un morceau de ruban adhésif (ou de cellophane) à l'extrémité de la spatule fournie ;
 - appliquer le ruban adhésif à la surface de la culture à étudier ;
 - déposer le morceau de ruban adhésif, prélèvement face inférieure, sur une goutte de bleu de lactophénol préalablement déposée au centre d'une lame ;
 - déposer sur le ruban adhésif une goutte de bleu de lactophénol ;
 - recouvrir d'une lamelle couvre-objet 22 x 32 mm ;
 - observer successivement au grossissement x100, puis x 400.

Appeler l'examineur lors de l'examen de la préparation au grossissement x100 après réalisation du croquis de votre observation.

4. Résultats et compte-rendu

Rendre compte de l'observation macroscopique du contaminant.

Réaliser un croquis de l'observation microscopique du contaminant.

Reporter sur le croquis de l'observation microscopique les termes adéquats à choisir parmi : conidiospores, sporangiospores, arthrospores, hyphe cloisonné, hyphe non cloisonné, phialide, columelle.

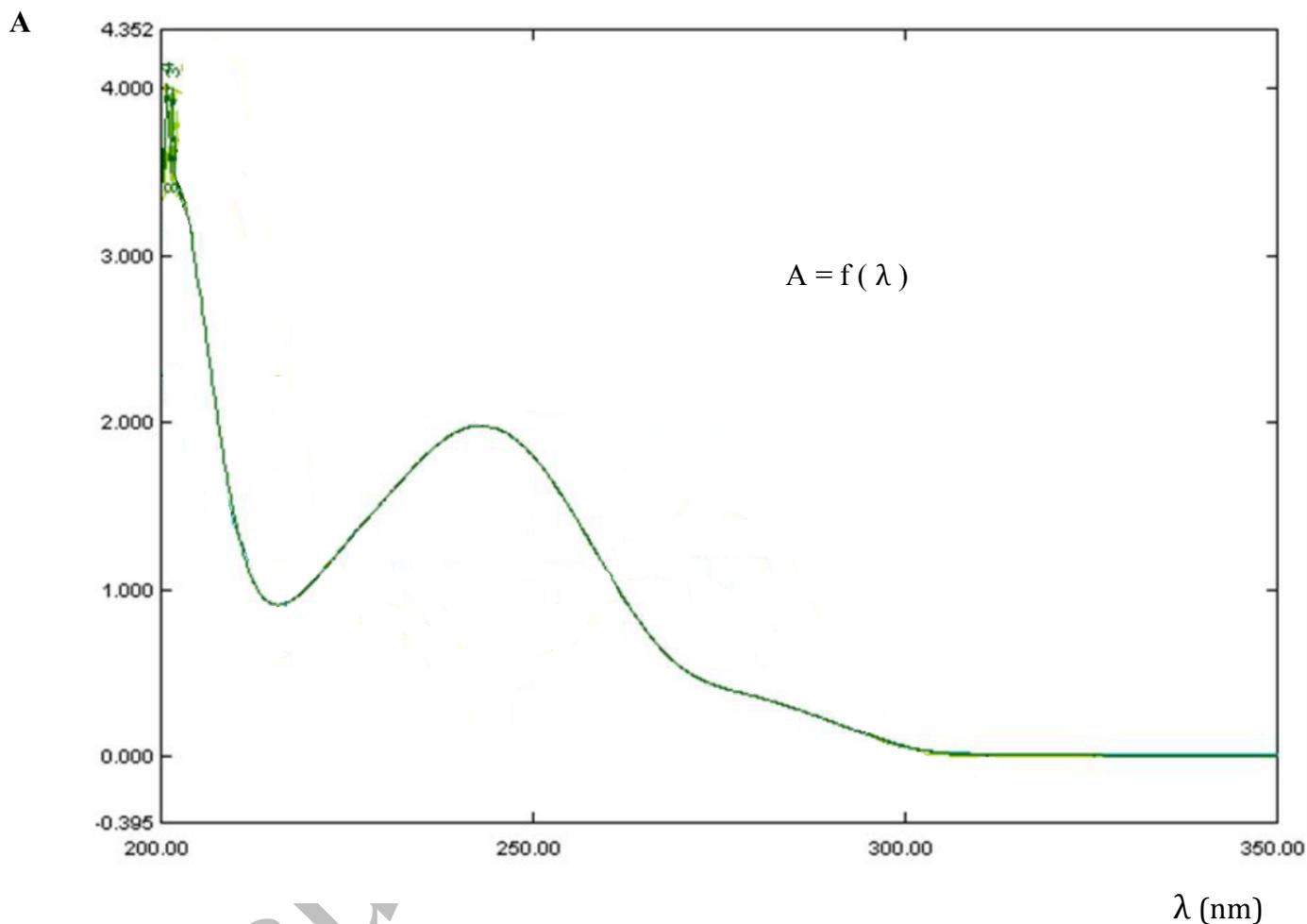
Identifier le genre de moisissure en utilisant l'annexe 4 et les critères de classification des moisissures.

Conclure.

Annexe n°1

FICHE RESSOURCE

Spectre d'absorption du paracétamol



International Journal of ChemTech Research

CODEN (USA): IJCRGG ISSN : 0974-4290

Spectrophotometric Estimation of Lornoxicam and Paracetamol Tablet dosage form using Hydrotropic Solubilizing Agent.

Tanushree Banerjee^{1*}, Bhaskar Banerjee¹, Prabhat Jain², Gourav Shukla¹, Angshu Banerjee³.

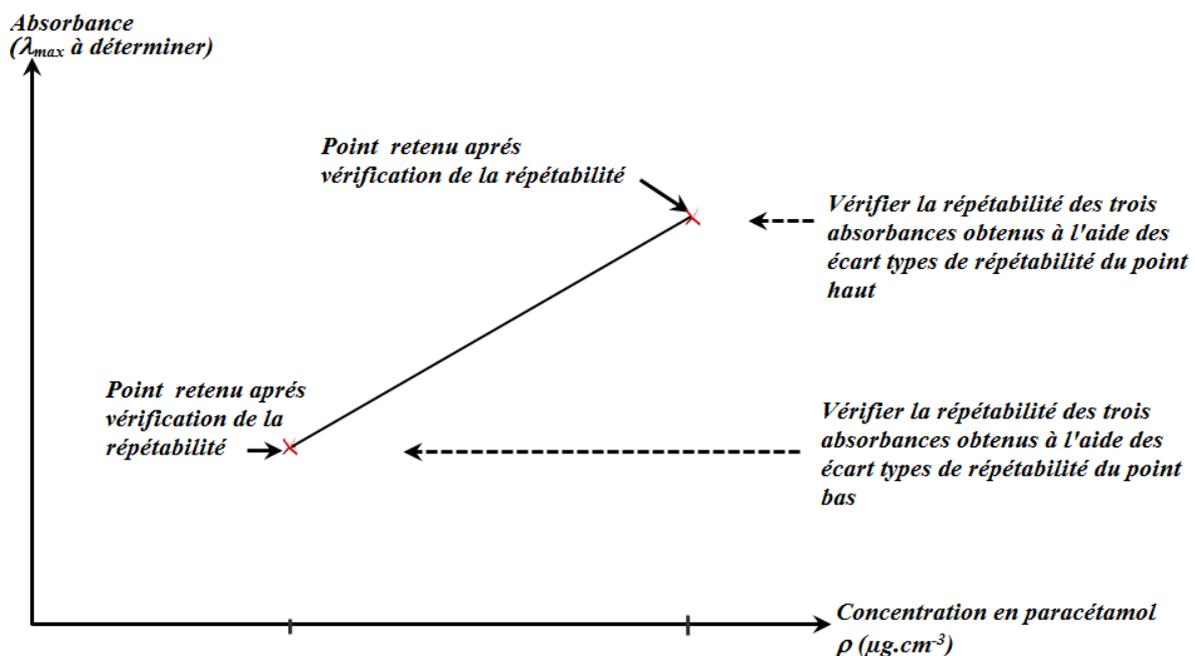
Annexe n°2

FICHE RESSOURCE

Procédure d'interprétation de la gamme d'étalonnage

Afin de tracer la gamme d'étalonnage, il sera procédé comme suit :

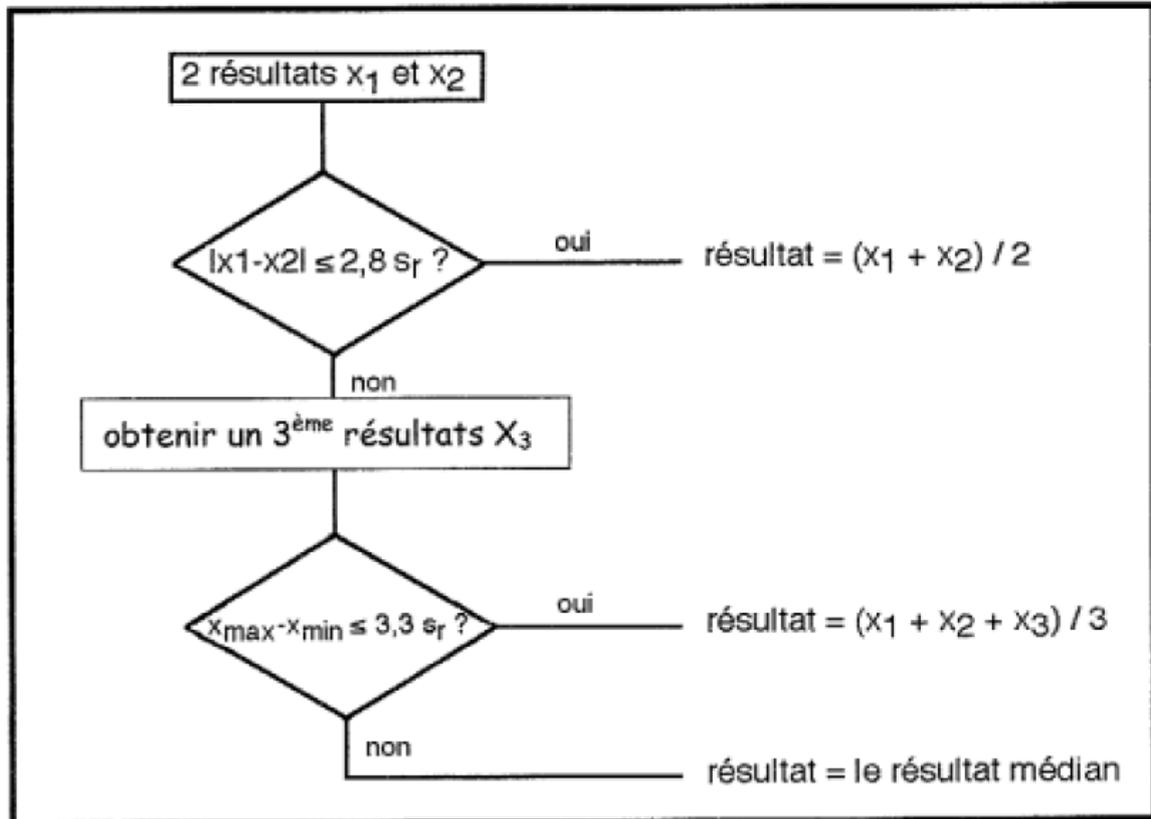
- vérifier la répétabilité des absorbances obtenues pour le tube à $50 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$; déterminer l'absorbance retenue.
- vérifier la répétabilité des absorbances obtenues pour le tube à $20 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$; déterminer l'absorbance retenue.
- tracer la droite entre les limites supérieure et inférieure des intervalles de mesure et dans l'intervalle des indications.



Annexe n°3

FICHE RESSOURCE

Logigramme de traitement des données expérimentales



- **Expression du résultat**

Le nombre de chiffres significatifs pour exprimer le résultat final établi sera en adéquation avec l'expression numérique de l'incertitude élargie

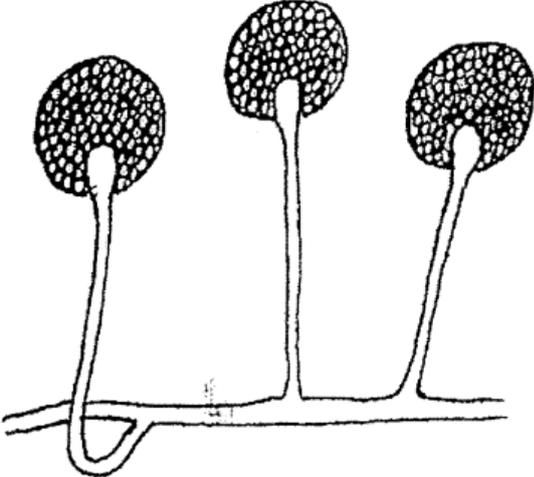
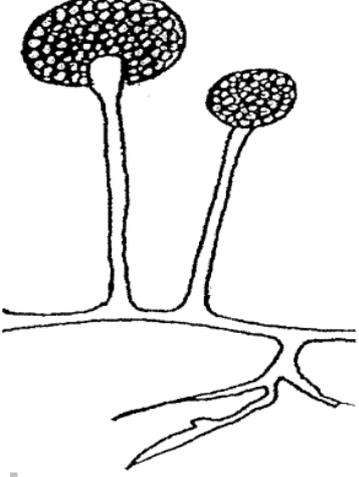
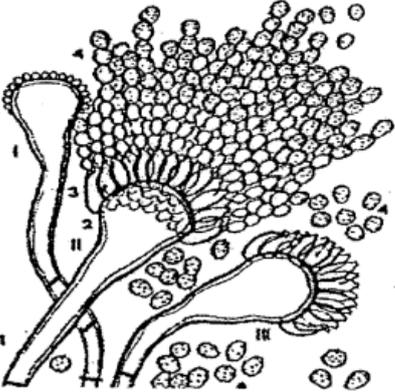
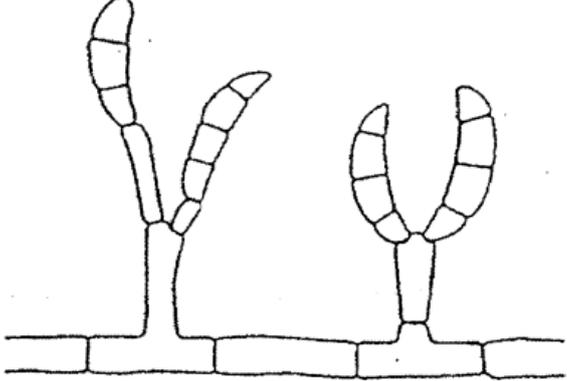
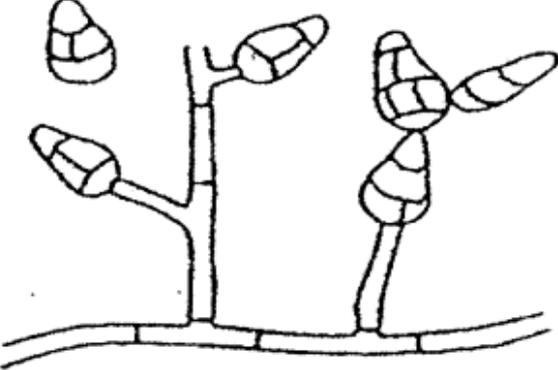
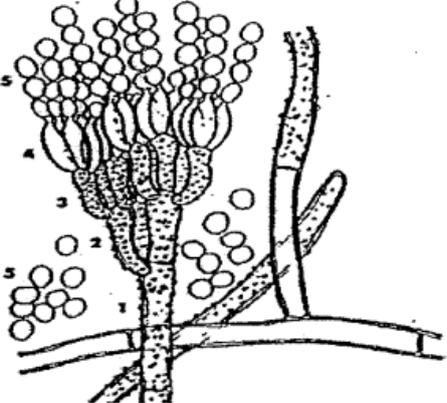
l'expression du résultat comporte :

- La valeur de s_r ;
- le nombre de résultats expérimentaux utilisés pour le calcul du résultat final établi ;
- le traitement mathématique à l'origine du résultat (moyenne arithmétique ou médiane) ;

Annexe n°4

FICHE RESSOURCE

Schémas d'organes de fructification de moisissures

	
<p>Mucor</p>	<p>Rhizopus</p>
	
<p>Aspergillus</p>	<p>Fusarium</p>
	
<p>Alternaria</p>	<p>Penicillium</p>

Annexe n°5

FICHE RESSOURCE

Fiche de données de sécurité du bleu de lactophéno

Document de travail

Solution de bleu de lactophénol

pour la coloration des champignons

Informations produit	
Numéro SH	3822 00 00
Catégorie de stockage	Conserver de +15°C à +25°C.
Données physiques et chimiques	
Solubilité dans l'eau	(20 °C) soluble
Densité	1.16 g/cm ³ (20 °C)
Valeur pH	2.3 (H ₂ O, 20 °C)
Informations de sécurité selon GHS	
Hazard Statement(s)	H301 + H311 + H331: Toxique par ingestion, par contact cutané ou par inhalation H314: Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H341: Susceptible d'induire des anomalies génétiques. H373: Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.
Precautionary Statement(s)	P280: Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage. P301 + P330 + P331: EN CAS D'INGESTION: rincer la bouche. NE PAS faire vomir. P302 + P352: EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon. P304 + P340: EN CAS D'INHALATION: transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. P305 + P351 + P338: EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
Signal Word	Danger
Hazard Pictogram(s)	
Classe de stockage	6.1B Substances non combustibles, toxiques
WGK	WGK 2 pollue l'eau
Disposal	9 Les composés cancérigènes et les composés inflammables considérés comme "très toxiques" ou "toxiques" (à l'exception des solvants): récipient F. Les sulfates d'alkyle sont cancérigènes: éviter toute inhalation et tout contact avec la peau. Pour les désactiver, les ajouter goutte à goutte, sous forte agitation, dans une solution ammoniacale concentrée, glacée (art. 105426). Avant de verser la solution dans le récipient D, contrôler le pH avec l'indicateur universel en bandelettes (art. 109535).