

Introduction : La pyriméthamine (PYR) est le traitement de 1ère ligne de la toxoplasmose congénitale chez le nouveau-né. En France, aucune forme pharmaceutique n'est adaptée à cette classe d'âge.

Objectif : Développement d'une formulation de PYR adaptée à la pédiatrie et réalisation des études de stabilité physico-chimique et microbiologique.

Matériels et méthodes



Formulation développée :

PYR à 5 mg/mL, gomme de xanthane (Gx) 0,5% (épaississant), sucralose 0,016% (édulcorant), sorbate de potassium (SK) 0,3% (conservateur) et de tampon citrate (pH 3,0 - 0,2%).



Méthode dosage - HPLC-UV indicatrice de stabilité validée :

Colonne kinetex coreshell (Phénoménex®) thermostatée à 40°C, gradient acétonitrile/méthanol/tampon KH₂PO₄ (pH 3, 10 mM), λ fixée à 230 nm + scan 190-400 nm.



Etude de sédimentation – Gx 0,5%:

Flacons conservés à 5 ± 3°C (n=3) et à 20°C (n=3) → dosage du surnageant (J0, M1, M3, M6).



Efficacité de la conservation microbienne (Essai 5.1.3, Ph. Eu.) :

Formulation avec 0,2 et 0,3% de SK et ajout de souches microbiennes. Inoculation à J0, J14 et J28 → réduction attendue de 99,9% et 90% respectivement pour les bactéries et les levures (nbre UFC moyen sur 2 géloses, réduction en % par rapport au J0)



Etude de stabilité physico-chimique :

Réalisée sur des flacons conservés 6 mois 5 ± 3°C (n=3) et à 20°C (n=3). Suivi de la teneur (>95%), produits de dégradations (PDs < 0,1%), pH, osmolalité et aspect (n=2).



Etude de stabilité microbiologique à 5 ± 3°C :

Dénombrement microbiologique → **Essai 2.6.12 Ph. Eu.**
+ Recherche spécifiée d'*E. coli* → **Essai 2.6.13. Ph. Eu.** :

- flacons non ouverts (n=3) à J0, M1, M2, M3 et M5
- flacons prélevés quotidiennement durant 3 mois (n=3) à J0, M1, M2 et M3

Résultats



Etude de sédimentation – Gx 0,5%:

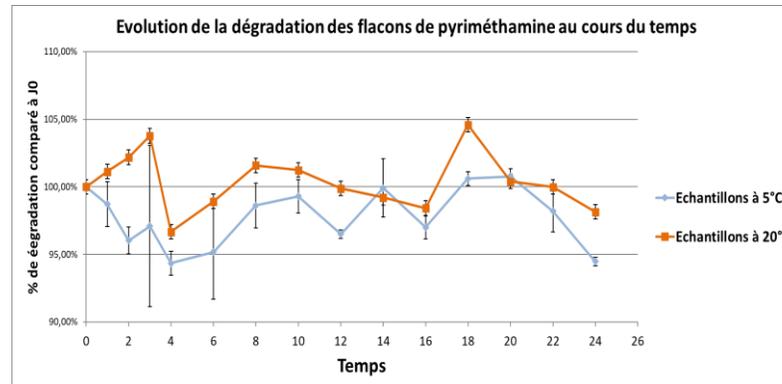
A 6 mois → baisse de 4,6 % de la teneur dans le surnageant à 20°C et augmentation de 9,6% à 4°C (probable phénomène de crémage réversible par agitation).



Efficacité de la conservation microbienne (Ph. Eu., 5.1.3) :

Avec 0,2 % de SK, les réductions en terme d'UFC pour *S. aureus* et *E. coli* n'étaient pas satisfaisantes.
Une concentration de 0,3% de SK a été retenue et validée (cf tableau).

Etude de stabilité physico-chimique – RESULTATS A 6 MOIS



Etude de stabilité microbiologique à 5 ± 3°C

Qualité microbiologique maintenue 5 mois avant ouverture et après 3 mois de prélèvement quotidien à 5 ± 3°C :

- Absence d'*E. coli* sur les 5 mois de l'étude.
- Moins de 200 UFC/mL et 20 UFC/mL pour les bactéries et les levures (limites données dans l'essai 5.1.4, Ph. Eu.)

MO ensemencé	J0	J14	J28
<i>Staphylococcus aureus</i>	52,5	5,5 (89,5%)	0,5 (99,04%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38	0 (100 %)	0 (100 %)
<i>E. coli</i>	81,5	0 (100 %)	0 (100 %)
<i>Candida albicans</i>	28	0 (100 %)	0 (100 %)
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	38,5	0 (100 %)	0 (100 %)

Teneur

4°C : 94,5% de la concentration initiale
20°C : 98,2% de la concentration initiale

pH

4°C : pH = 5,774 (J0) → +5,8 % de variation à M6 (pH = 6,087)
20°C : pH = 5,753 (J0) → +14,5% de variation à M6 (pH = 6,578)

Osmolalité

4°C : 42 mOsm/kg (J0) - 45 mOsm/kg (M6)
20°C : 44 mOsm/kg (J0) - 60 mOsm/kg (M6)

PDs et aspect

Pas de produits de dégradation
pas de changements organoleptiques

Conclusion : La Gx réduit la sédimentation et la concentration de SK choisie limite les contaminations microbiologiques. La perte de l'efficacité du SK au-dessus d'un pH de 6 amène à fixer la durée de conservation à 14 semaines à 5 ± 3°C avant ouverture et 1 mois après ouverture par précaution.