

Introduction

L'hydrochlorothiazide est un diurétique utilisé en pédiatrie et aucune forme pédiatrique n'est actuellement commercialisée. La solution proposée est la préparation d'une suspension buvable d'hydrochlorothiazide à 2 mg/mL dans l'Inorpha® dont la stabilité physico-chimique a été déterminée dans la littérature (2 mois à 20°C¹ et 3 mois à 4 ± 2°C²).

Objectifs

Evaluer la stabilité microbiologique et l'efficacité de la conservation antimicrobienne d'une préparation d'hydrochlorothiazide à 2 mg/mL dans l'Inorpha®.

Matériels et méthodes

Applicabilité de la méthode de contrôle (Essai 2.6.12/13 Ph.Eur.)

Recherche de la dilution neutralisant le sorbate de potassium (Ph. Eur. Essai 2.6.12.-2)

Essai de dénombrement microbien (Ph.Eur. 2.6.12)

Contamination par <i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>C.albicans</i> et <i>A.brasiliensis</i>			
Dilutions testées	1/10 ^{ème}	1/20 ^{ème}	1/50 ^{ème}

➤ Ensemencement des échantillons contaminés, du témoin (T) positif (5 MO) et négatif - méthode d'étalement en surface

✓ Résultat attendu : moins d'un facteur 2 de différence entre le T positif et l'échantillon dilué.

Recherche de microorganismes spécifiés (Ph.Eur 2.6.13)

Contamination par <i>E.coli</i>				
Dilutions	1/10 ^{ème}	1/100 ^{ème}	1/200 ^{ème}	1/1000 ^{ème}

➤ Recherche d'*E.coli* dans les échantillons contaminés, le T positif et T négatif par :



Pré-incubation



Sélection



Subculture

(Gélose McConkey)

✓ Résultat attendu : Identification de la dilution permettant de mettre en évidence la présence d'*E.coli*.

Etude de stabilité microbiologique (Essai 5.1.4 Ph.Eur.)

Détermination de la durée de stabilité de la préparation d'hydrochlorothiazide (n=6 lots)

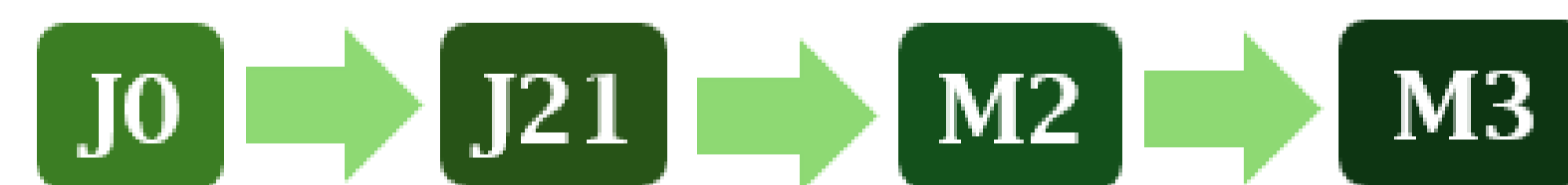
Paramètres de l'étude

Stabilité	Lots	Conservation	
		25 ± 2°C	4 ± 2°C
Avant ouverture (flacons fermés)	Lots 1 à 3	12 flacons	12 flacons
Après ouverture (ouverts à J0)	Lots 4 à 6	3 flacons	3 flacons

Prélèvements journaliers par seringue orale.

Déroulement de l'étude

Essai de dénombrement microbien et recherche d'*E.coli* à l'aide de la dilution validée lors de l'essai d'applicabilité (1/10^{ème})



✓ Résultats attendus pour une préparation non stérile buvable aqueuse :

	Limites de la Pharmacopée Européenne (Essai 5.1.4.-1)
Germes aérobies	< 200 UFC/mL
Moisissures/Levures	< 20 UFC/mL
Microorganismes spécifiés	Absence d' <i>E.coli</i>

Efficacité de la conservation antimicrobienne (Essai 5.1.3 Ph.Eur.)

Evaluation de l'efficacité du sorbate de potassium à la concentration présente dans l'Inorpha®.

- 5 flacons de suspension buvable d'hydrochlorothiazide à 2 mg/mL dans de l'Inorpha®.
- Suspensions microbiennes : Utilisation de Bioballs (Biomerieux®) correspondant aux 5 souches préconisées par la Ph.Eur. (Essai 5.1.3)
- Contamination de chaque flacon par un des 5 MO.

Déroulement de l'étude

Essai de dénombrement microbien par la méthode d'étalement en surface		
J0	J14	J28

Conservation des flacons à température ambiante.

✓ Résultats attendus (Essai 5.1.3.-3 Ph.Eur.) :

	Réductions logarithmiques	
	J14	J28
Bactéries	3	Pas d'augmentation
Levures	1	Pas d'augmentation

Résultats

Applicabilité de la méthode de contrôle (Essai 2.6.12/13 Ph.Eur.)

Essai de dénombrement microbien:

Ensemble des dilutions validées

Recherche de MO Spécifiés :

Mise en évidence d'*E.coli* avec l'ensemble des dilutions testées

➤ Choix de la plus petite dilution efficace : 1/10^{ème}

Efficacité de la conservation antimicrobienne (Essai 5.1.3 Ph.Eur.)

	UFC moyens (n= 2 géloses)		
	J0	J14	J28
<i>S. aureus</i>	111	0	0
<i>P.aeruginosa</i>	45	0	0
<i>E.coli</i>	74	0	0
<i>C.albicans</i>	64	0	0
<i>A.brasiliensis</i>	31	0	0

➤ Sorbate de K⁺ efficace à la concentration présente dans l'Inorpha®.

Etude de stabilité microbiologique (Essai 5.1.4 Ph.Eur.)

Conservation	UFC moyens/mL							
	☀				❄			
Jour d'analyse	J0	J21	M2	M3	J0	J21	M2	M3
Avant ouverture	0	0	0	0	33*	0	0	0
Après ouverture	17*	0	0	0	0	0	0	0

* Identification par MALDI-TOF DGAT : *B.subtilis*

➤ Suspension buvable stable 3 mois à 25 et 4 °C, avant et après ouverture.

Conclusion

La suspension buvable est stable 3 mois dans les deux conditions de conservation. Cela nous permet de valider en routine une durée de stabilité de 3 mois avant et 2 mois après ouverture des flacons conservés à 4±2°C.