

Contexte : La clonidine est utilisée dans le traitement du syndrome de sevrage aux opiacés chez le nourrisson. Si la stabilité physico-chimique¹ d'une solution de clonidine a déjà été démontrée, il est nécessaire de réaliser une étude de stabilité microbiologique en raison des différences de matériels utilisés, conformément aux Bonnes Pratiques de Préparation.

Etudier la stabilité microbiologique d'une solution de clonidine à 10 µg/mL afin d'en fixer sa durée de conservation



Méthodes

Contrôle microbiologique des produits non stériles par voie orale (Ph. Eur. 5. 1. 4.)

2. 6. 12. Essai de dénombrement microbien



Détermination de la dilution neutralisant le conservateur (sorbate de potassium) → une différence inférieure d'un facteur 2 d'UFC entre l'échantillon contaminé et le témoin positif (T +)

✓ Test de différentes dilutions dans du tampon phosphate

✓ Contamination des échantillons et du T+ par *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. spizizenii*, *A. brasiliensis*, *C. albicans* (disques Vitroids™, Millipore)



✓ Ensemencement par méthode de filtration sur membrane (pompe EZFIT®, Milipore)

- Fertilité des milieux de culture et applicabilité de la méthode vérifiées.
- Etude menée sur 3 mois avec des contrôles sur flacons ouverts à J0 J7 et J28.
- Poursuite de l'étude de stabilité sur les flacons ouverts avec des ouvertures répétées.

2. 6. 13. Recherche de microorganisme (MO) spécifiés

Détermination de la plus petite dilution permettant la croissance de *E. Coli*

✓ Test de différentes dilutions dans du tampon tryptone sel

✓ Contamination des échantillons et du T + par *E. Coli*

Ouverture flacons	Prélèvements sur flacons ouverts		
	+7j	+14j	+28j
J0			
J1			
J7	+7j	+14j	+28j
J14			
J28	+7j	+14j	+28j
M3			
M6	+7j	+14j	+28j

Tableau 1 : Chronologie d'ouverture des flacons

Résultats

2. 6. 12. ESSAI DE DENOMBREMENT MICROBIEN

→ Différence de moins d'un facteur 2 d'UFC entre l'échantillon dilué et la préparation témoin

→ Dilutions dans du tampon phosphate au 10^e et 20^e testées

→ Dilution au 10^e sélectionnée



Membrane en ester de cellulose 0,45µm MF-Milipore®

2. 6. 13. RECHERCHE DE MO SPECIFIES : *E. Coli*

→ Dilutions au 10^e et au 20^e effectuées

→ Inhibition insuffisante du conservateur pour la dilution au 10^e^{me}

→ Dilution au 20^e sélectionnée



Gélose MacConkey positive à *E. Coli* pour une solution de clonidine diluée au 20^e

5. 1. 4. CONTRÔLE MICROBIOLOGIQUE DES PRODUITS NON STERILES PAR VOIE ORALE

→ Répond aux critères fixés par la Ph. Eur.

	Limites Ph. Eur. 5. 1. 4	Max UFC retrouvées pour la solution de clonidine pour 1 mois d'étude	Max UFC retrouvées pour la solution de clonidine pour 3 mois d'étude
Germes aérobies	< 100 UFC/mL	30 UFC/mL	0 UFC/mL
Moisissures / Levures	< 10 UFC/mL	0	0
Microorganismes spécifiés	Absence <i>E. Coli</i>	Absence <i>E. Coli</i>	Absence <i>E. Coli</i>

Tableau 2 : Résultats des contrôles microbiologiques pour la solution de clonidine 10 µg/mL



La neutralisation du conservateur (sorbate de potassium) est efficace. La qualité microbiologique de la solution de clonidine 10 µg/mL répond aux critères de la Ph. Eur.

Conclusion : La qualité microbiologique de la solution de clonidine 10 µg/mL répond aux critères de la Ph. Eur. Ces résultats permettent de valider une durée de conservation de 3 mois à 4 ± 2°C ; la durée de stabilité après ouverture est de 1 mois. L'étude se poursuit avec des contrôles à M6.