

INTRODUCTION

La ventilation mécanique parfois nécessaire en réanimation peut être associée au développement d'une pneumonie (conséquences : taux de mortalité d'environ 20%, prolongation de la ventilation mécanique, de la consommation d'antibiotiques et de la durée globale du séjour).

Depuis 2017, la SFAR (Société Française d'Anesthésie et de Réanimation) recommande¹ en première ligne, pour la prévention de la survenue de pneumonies, l'utilisation d'une **suspension de décontamination digestive sélective (DDS)** composée de trois anti-infectieux : **gentamicine - amphotéricine B - colistine**.

Le Service Central de la Qualité et de l'Information Pharmaceutiques (SCQIP) a mis au point une méthode de dosage de chaque principe actif afin de pouvoir valider la suspension de DDS comme préparation hospitalière. De plus, une étude de stabilité a été réalisée afin de déterminer précisément une date de péremption.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- Dosage des principes actifs = chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur UV-visible (HPLC-UV) avec mise au point d'un protocole spécifique pour chaque anti-infectieux,
- Etude de stabilité réalisée selon 2 conditions de conservation différentes : à température ambiante pendant 14 jours et entre +2 et +8°C pendant 6 mois.
- Les paramètres suivants ont été mesurés conformément à la pharmacopée : la **teneur en principe actif** et le **pH**.
- Colistine = mélange de E1, E2, E3, E1-I et E1-7MOA + multiples impuretés → étude de la variation de teneur des 2 colistines majoritaires E1 et E2 en raison de la complexité des chromatogrammes obtenus (figure 1).

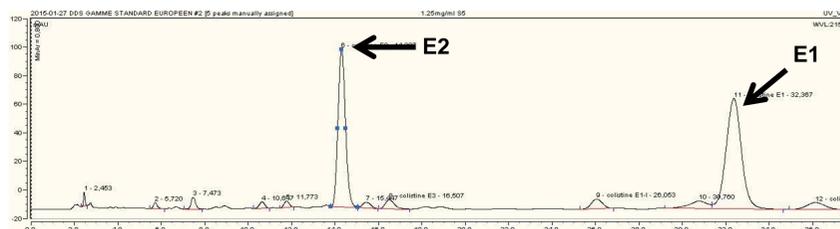


Figure 1 : Exemple d'un chromatogramme de colistine. Seuls les pics E1 et E2 sont considérés dans ce travail

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1) Mise au point des protocoles de dosage de chaque anti-infectieux :

a) Traitement de l'échantillon de colistine² :

1. Extraction solide/liquide sur cartouche Lichrolut® RP-18
2. Concentration de l'échantillon par évaporation sous flux d'azote

	Amphotéricine B ³	Gentamicine	Colistine
Phase mobile	ACN/Eau/ac.acétique (44/51/5)	ACN/Eau (40/60) + THF 0,02%	4,46 mg/mL Na ₂ SO ₄ à pH 2,4 dans eau/ACN (78/22)
Colonne	Kromasyl® 100-5C18, 250mmX4,6 mm	Capcell PAK® C18 MG, 4,6 mmX50 mm	Kromasyl® 100-5C18, 250mmX4,6 mm
Longueur d'onde (nm)	406	240	215
Débit (mL/min)	1	1,5	1
Temps d'analyse (min)	6	45	38
V injection (µL)	20	20	20

b) Traitement de l'échantillon de gentamicine⁴ :

Dérivatisation = **INDISPENSABLE** pour pouvoir détecter la molécule :

phénylisocyanate à 5%
+
triéthylamine à 0,7% (catalyseur)
+
45°C pendant 5 min

2) Résultats de l'étude de stabilité :

a) Valeurs limites de conformité (VN) : ± 10% de la valeur à t₀

b) A température ambiante :

- Teneur en gentamicine, colistine E1 et E2 dans les VN
- Teneur en amphotéricine B (figure 2) < VN à J14
- pH = dans les VN

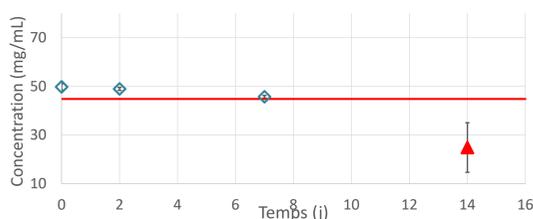


Figure 2 : Evolution de la teneur en amphotéricine B au cours du temps, à température ambiante Moyenne de 3 échantillons. La ligne rouge représente la valeur limite de conformité

Stable 7 j à température ambiante

c) Entre +2 et +8°C (figure 3) :

- Teneur en gentamicine, amphotéricine B, colistine E1 et E2 dans les VN, **MAIS** :
- Présence de **produits de dégradation** :
→ amphotéricine B à J180
→ colistine E1 et E2 à J90 et J180
- pH : dans les VN

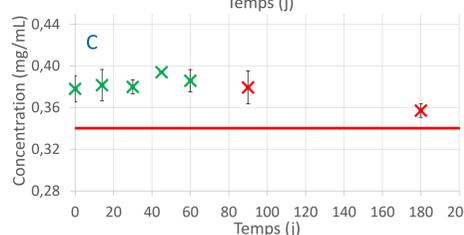
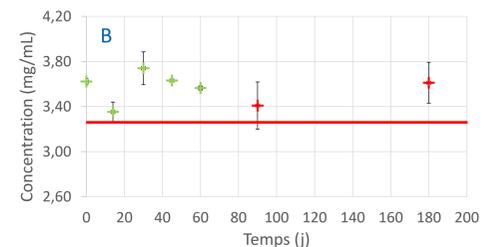
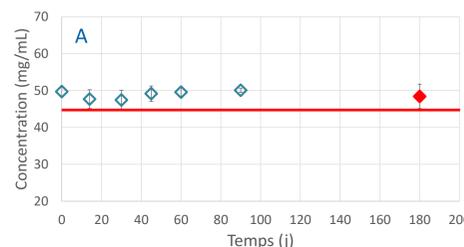


Figure 3 : Evolution des teneurs, entre +2 et +8°C, pendant 120 jours, de A : l'amphotéricine B; B : la colistine E1; C : la colistine E2 Moyenne de 3 échantillons. Les lignes pleines représentent les valeurs limites de conformité.

Stable 2 mois conservé au frais entre +2 et +8°C

CONCLUSION

Les échantillons de gentamicine et de colistine nécessitent un traitement particulier afin de pouvoir être analysés par HPLC-UV. La mise au point de cette méthode de dosage permet la préparation à l'avance de préparations hospitalières de suspension de DDS. Ces dernières peuvent être conservées pendant **60 jours entre +2 et +8°C** et **7 jours à température ambiante**, au maximum. Les méthodes de dosage mises au point permettent de contrôler la teneur de chaque principe actif afin de garantir un effet thérapeutique optimal.