



HAL
open science

Étude des interactions physico-chimiques entre les préparations parentérales et un nouveau conditionnement primaire utilisable en unité de préparation centralisée, le flacon Crystal®

Frédéric Feutry

► **To cite this version:**

Frédéric Feutry. Étude des interactions physico-chimiques entre les préparations parentérales et un nouveau conditionnement primaire utilisable en unité de préparation centralisée, le flacon Crystal®. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2016. Français. NNT : 2016LIL2S021 . tel-03523337

HAL Id: tel-03523337

<https://theses.hal.science/tel-03523337>

Submitted on 12 Jan 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Université de Lille Nord de France
École Doctorale Biologie Santé de Lille**

2016

**Thèse
Présentée pour l'obtention du grade de
Docteur de l'Université de Lille 2**

**Spécialité
Pharmacie en Sciences du Médicament et des autres Produits de Santé**

par Frédéric FEUTRY

**ÉTUDE DES INTERACTIONS PHYSICO-CHIMIQUES ENTRE LES
PRÉPARATIONS PARENTÉRALES ET UN NOUVEAU CONDITIONNEMENT
PRIMAIRE UTILISABLE EN UNITÉ DE PRÉPARATION CENTRALISÉE,
LE FLACON CRYSTAL®**

Soutenue publiquement le 8 novembre 2016

Membres du jury :

Directeur de thèse : Mme le Docteur BARTHELEMY Christine

**Rapporteurs : M. le Professeur HECQ Jean-Daniel
M. le Professeur LAGARCE Frédéric**

**Examineurs : Mme le Professeur AZAROUAL Nathalie
M. le Professeur BONNABRY Pascal
M. le Professeur ODOU Pascal**

A Grand-père et Grand-mère qui croyaient en la valeur du travail et qui ont toujours encouragé leurs enfants et petits-enfants à aller le plus loin possible.

Remerciements

J'exprime toute ma gratitude :

Aux Professeurs Frédéric Lagarce et Jean-Daniel Hecq de l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce mémoire et de l'honneur qu'ils me font d'être les rapporteurs de ce document. Qu'ils soient assurés de ma sincère reconnaissance.

Au Professeur Pascal Bonnabry, pour avoir accepté d'être examinateur de ce travail, et surtout pour l'excellent accueil reçu à la pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève.

Au Professeur Nathalie Azaroual, pour avoir accepté d'être membre de ce jury, pour sa sympathie, sa disponibilité et la qualité des travaux réalisés ensemble.

Au Professeur Pascal Odou, pour avoir bien voulu juger cette thèse. Je lui suis reconnaissant pour ces belles années passées au laboratoire. Merci pour les opportunités offertes tout au long de mon cursus.

Au Docteur Christine Barthélémy, pour avoir accepté d'encadrer ce travail. La thèse est un parcours semé d'embûches et vous m'avez permis de toujours avancer avec rigueur et de viser un travail de qualité. Notre collaboration était directe et franche, basée sur la réciprocité et la complémentarité.

Au Docteur Stéphanie Genay, merci d'avoir toujours été là, de ma première année de M2 jusqu'à la fin de cette thèse. Je pense que nous avons réalisé un binôme efficace, motivé, amateur et connaisseur de tous les systèmes analytiques disponibles au laboratoire. Tu mérites une bonne partie des félicitations reçues pour ce travail.

Au Professeur Bertrand Décaudin, aux Docteurs Nicolas Simon et Damien Lannoy d'avoir toujours été disponibles pour partager leur expertise dans les domaines concernés.

Au Professeur Valérie Sautou, pour son professionnalisme qui inspire à toujours vouloir faire mieux. Le projet ARMED a été l'occasion de faire de belles rencontres.

Au Docteur Nicolas Blanchemain, d'être toujours disponible pour partager ses connaissances sur les polymères. Ce fut d'un grand intérêt dans le cadre de cette thèse.

A Sandrine, Jean-Fred, Silwan, Nicolas et Marco, merci pour l'accueil, la qualité de l'encadrement et surtout l'excellente ambiance qui ont agrémenté mon séjour sur Genève. « LCQ un jour, LCQ toujours ».

A Carine, pour le travail réalisé sur les flacons Crystal[®]. Son aide a été précieuse lors des études de stabilité.

A Maxime, aux côtés duquel je suis fier d'avoir passé ces années de thèse. Je lui souhaite le meilleur pour la suite.

A mes collègues du laboratoire, aux doctorants, aux master II, merci pour cette bonne ambiance qui motive à venir travailler. Petit clin d'œil à MAM notre éternelle maman au laboratoire.

A mes collègues du Centre Oscar Lambret, Stéphanie, Ilyes, Guillaume et Geoffrey, pour leur accueil et leur gentillesse qui m'ont permis de trouver rapidement ma place au sein de l'équipe. Merci pour le temps libéré pour la rédaction de cette thèse.

A Patrick Balériaux et Julien Maréchal, pour leur disponibilité, leur volonté de toujours avancer et de prendre en compte nos remarques d'amélioration. Je serai toujours partant pour boire une petite tisane à la menthe en leur compagnie.

A ma famille, pépère et mémère, papa, maman, les frères et sœurs et oncles et tantes, merci pour cette bonne ambiance et ce climat familial qui permet un travail serein. Même si personne ne sait vraiment ce que j'ai bien pu faire en dix années d'étude, je suis fier de leur annoncer que mon cursus universitaire est terminé.

A Julie, merci pour sa patience, le soutien et les sacrifices que demande la vie en couple avec un thésard. C'est la fin d'une aventure et le début d'une belle histoire dans notre petite famille.

A tous mes amis, pour tous les bons moments passés ensemble depuis tant d'années.

Aux autres personnes qui ont participé de près ou de loin à cette thèse, elles ne sont pas oubliées.

Table des matières

Liste des abréviations	13
Liste des figures	15
Liste des tableaux	21
Avant-propos	25
Partie générale	29
1. Contexte	29
1.1. Problématique de la préparation des médicaments destinés à la voie parentérale dans les services de soins.....	29
1.1.1. Qualité chimique.....	30
1.1.2. Qualité microbiologique.....	31
1.1.3. Etiquetage.....	32
1.2. Développement des unités de préparation des médicaments injectables stériles dans les pharmacies hospitalières.....	33
2. Interactions contenu-contenant	36
2.1. Description et aspects fondamentaux.....	36
2.2. Migration du contenu vers le contenant et l'extérieur.....	39
2.2.1. Adsorption.....	39
2.2.2. Absorption.....	40
2.2.3. Perméation.....	40
2.3. Migration du contenant et de l'extérieur vers le contenu.....	41
3. Dispositifs utilisables en CIVAS, matériaux utilisés et risques d'interactions ... 44	
3.1. Flacons.....	45
3.1.1. Verre.....	45
3.1.2. Polymères et copolymères d'oléfines cycliques.....	49
3.1.3. Bouchons élastomériques.....	56

3.2.	Ampoules	61
3.3.	Seringues.....	62
3.3.1.	Polypropylène.....	63
3.3.2.	Huile de silicone	65
3.4.	Poches	66
3.4.1.	Polychlorure de vinyle	67
3.4.2.	Polyéthylène	73
3.4.3.	Ethylène-acétate de vinyle	75
3.4.4.	Poches particulières	76
3.5.	Bilan sur les risques d'interaction contenu-contenant en fonction des matériaux utilisés 77	
4.	Systèmes de remplissage et automatisation	78
4.1.	Automates de préparation	81
4.2.	Automates de remplissage	78
4.3.	La technologie Crystal®	83
	Partie expérimentale	88
	Introduction.....	88
	1^{ère} Partie : Evaluation du flacon Crystal® vis-à-vis des principaux risques d'interactions	89
1.	Risque de sorption	89
1.1.	Evolution des dosages par spectrométrie de masse sur 3 mois de 8 préparations de molécules cytotoxiques conservées en flacons Crystal®, évaluation du risque de sorption comparé au flacon commercial.....	90
1.1.1.	Introduction.....	90
1.1.2.	Matériels et méthodes	91
1.1.3.	Résultats.....	95
1.1.4.	Discussion	103

1.2.	Evolution des dosages sur 24 heures de 3 préparations de molécules dérivées du platine conservées en flacon Crystal [®] par RMN, évaluation du risque de sorption comparé au flacon commercial.....	105
1.2.1.	Introduction.....	105
1.2.2.	Matériels et méthodes.....	105
1.2.3.	Résultats et discussion.....	108
1.2.4.	Discussion.....	111
1.3.	Synthèse des risques de sorption.....	112
2.	Risque de perméation.....	113
2.1.	Evolution des dosages sur 50 jours de la concentration en phénol et en métacrésol d'une solution à 1UI/mL d'insuline (Novorapid [®]) conservée en flacon Crystal [®] par chromatographie liquide couplée à la spectrophotométrie UV comparé à des seringues en polypropylène.....	113
2.1.1.	Introduction.....	113
2.1.2.	Matériels et méthodes.....	114
2.1.3.	Résultats.....	116
2.1.4.	Discussion.....	121
2.2.	Influence du type de bouchon utilisé sur la stabilité à 50 jours et à 25°C/60%RH du métacresol conditionné dans des flacons en verre de 10mL.....	123
2.2.1.	Introduction.....	123
2.2.2.	Matériels et méthodes.....	124
2.2.3.	Résultats.....	125
2.2.4.	Discussion.....	126
2.3.	Synthèse des risques de perméation.....	127
3.	Risque de contamination particulaire.....	128
3.1.	Impact du pH sur la contamination particulaire.....	129
3.1.1.	Introduction.....	129
3.1.2.	Matériels et méthodes.....	129

3.1.3.	Résultats.....	130
3.1.4.	Discussion	131
3.2.	Caractérisation des particules générées par analyse optique et analyse thermogravimétrique.....	132
3.2.1.	Introduction.....	132
3.2.2.	Matériels et méthodes	132
3.2.3.	Résultats et discussion.....	135
3.2.4.	Conclusion.....	141
3.3.	Synthèse des risques de contamination particulaire	142
4.	Risque de migration d'éléments solubles du flacon vers le contenu.	142
4.1.	Extraction par reflux, bilan massique et caractérisation des plastifiants.....	144
4.1.1.	Introduction.....	144
4.1.2.	Matériels et méthodes	144
4.1.3.	Résultats et Discussion	146
4.1.4.	Discussion	150
4.2.	Synthèse des risques de migration d'éléments solubles	151
5.	Conclusion sur l'évaluation des risques d'interactions liés à l'utilisation du flacon Crystal®	152
2^{ème}	Partie : Etudes de stabilité à 1 an de préparations pouvant être produites en unités centralisées en flacons Crystal®	155
1.	Stabilité d'une solution de céfuroxime dosée à 10 mg/mL par chromatographie liquide couplée à une détection UV	155
1.1.	Introduction	155
1.2.	Matériels et méthodes	156
1.2.1.	Préparation et remplissage dans les flacons Crystal® et les seringues de la solution de céfuroxime à 10mg/mL.....	156
1.2.2.	Etude de stabilité.....	157

1.3.	Résultats	159
1.3.1.	Méthode HPLC/UV	159
1.3.2.	Stabilité dans les flacons et les seringues	161
1.3.3.	Osmolalité, pH et stérilité.....	164
1.4.	Discussion	165
2.	Stabilité d'une solution de midazolam dosée à 1 mg/mL par chromatographie liquide couplée à une détection UV	166
2.1.	Introduction	166
2.2.	Matériels et méthodes	166
2.2.1.	Dosage du midazolam par HPLC/UV	166
2.2.2.	Etude de stabilité	167
2.3.	Résultats	169
2.3.1.	Validation de la méthode HPLC/UV	169
2.3.2.	Etude de stabilité	171
2.4.	Discussion	176
3.	Stabilité d'une solution de noradrénaline dosée à 0,5 mg/mL et 0,2 mg/mL par chromatographie liquide couplée à la détection UV	178
3.1.	Introduction	178
3.2.	Matériels et méthodes	179
3.2.1.	Dosage de la noradrénaline par HPLC/UV	179
3.2.2.	Etude de stabilité	180
3.3.	Résultats	181
3.3.1.	Validation de la méthode HPLC/UV	181
3.3.2.	Etudes de stabilité	183
3.3.3.	Evolution du pH	197
3.3.4.	Observation macroscopique et contamination particulière.....	198

3.3.5. Tests de stérilité	200
3.4. Discussion	200
4. Bilan des études de stabilité	202
Conclusion	205
Références bibliographiques	207
Annexes	223
Publications et travaux	242

Liste des abréviations

AES	Atomic Emission Spectroscopy
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ARMED	Assessment and Risk management of Medical Devices
AT	Aseptic Technologies
ATG	Analyse ThermoGravimétrique
BHT	Butylhydroxytoluène
BPP	Bonnes Pratiques de Préparation
CIVAS	Centralized IntraVenous Additive Services
COC	Cyclic Olefin Copolymer
COP	Cyclic Olefin Polymer
COSY	Homonuclear correlation spectroscopy
CV	Coefficient de variation
DAD	Diode Array Detector
DBP	Dibutyl phthalate
DEHA	Di-(2-ethylhexyl) adipate
DEHP	Di-(2-ethylhexyl) phthalate
DINCH	1,2-cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester
DINP	Diisononyl phthalate
DOA	Dioctyl adipate
EMA	European Medicines Agency
EPPI	Eau Pour Préparations Injectables
ESI	Electrospray ionisation
EVA	Ethylene-vinyl acetate
EVOH	Ethylene vinyl alcohol copolymer
FDA	Food and Drug Administration
FID	Flame Ionization Detector
G5%	Glucose 5%
GC	Gas Chromatography
GERPAC	Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée
GMP	Good Manufacturing Practices
HCl	Acide Chlorhydrique
HDPE	High-density PolyEthylene
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSQC	Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy
ICH	International Conference on Harmonisation
ICP	Inductively coupled plasma
LDPE	Low-density PolyEthylene
MEHP	Mono(2-ethylhexyl)phthalate
MDZ	Midazolam
MRM	Multiple Reaction Monitoring
MS	Mass Spectrometry
NA	NorAdrénaline

NaCl	Chlorure de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
PC	PolyCarbonate
PE	Polyéthylène
PMMA	Poly(Methyl) Methacrylate
PODP	Parenteral and Ophthalmic Drug Products
PP	Polypropylène
PQRI	Product Quality Research Institute
PRCA	Pure Red Cell Aplasia
PS	PolyStyrène
PVC	PolyVinyl Chloride
RCP	Résumés des Caractéristiques du Produit
REACH	Registration, Evaluation, Authorization and restriction of CHemicals
RH	Relative Humidity
RMN	Rayonnement Magnétique Nucléaire
ROMP	Ring-Opening Metathesis Polymerization
SBR	Styrene-Butadiene Rubber
SCT	Safety Concern Threshold
SEBS	Styrène-Ethylène/Butylène-Styrène
SFPC	Société Française de Pharmacie Clinique
SFSTP	Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
SSI	Solution Salée Isotonique
TEHTM	Trimethyl trimellitate
TMSPd4	Sodium Trimethylsilylpropionate deutéré
TOTM	Tri(2-ethylhexyl) trimellitate
USP	United States Pharmacopeia
UV	UltraViolet

Liste des figures

Figure 1 : Flacons clos Crystal [®] et système de remplissage automatisé	26
Figure 2 : Les différents phénomènes d'interaction contenant- contenu. 1. Migration du produit vers le contenant : a) adsorption, b) absorption, c) perméation. 2. Migration du contenant vers le contenu : relargage. 3. Passage du gaz ou du liquide à travers la paroi du contenant : perméabilité. (d'après « Interaction contenant-contenu » Commission SFSTP (34))	39
Figure 3 : Représentation schématique du phénomène d'adsorption, d'absorption et de perméation	40
Figure 4 : Exemple d'un flacon en verre contenant une solution basique et sujet au phénomène de délamination	49
Figure 5 : Représentation d'une molécule de norbornène	51
Figure 6 : Polymérisation en chaîne du COC et polymérisation par ouverture de cycle du COP à partir de la molécule de norbornène (R_1 et $R_2 = H$) traduit de Cui <i>et al.</i> (49)	51
Figure 7 : Spectre d'absorption UV de différents polymères plastiques (COC Topas, Poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA), Polystyrène (PS) et Polycarbonate (PC)) par rapport au Quartz, d'après la documentation Topas (50).	52
Figure 8 : Perméabilité à l'oxygène et à l'air du COC Topas [®] par rapport à d'autres plastiques pour un film de 100 μm d'épaisseur (EVA/PE = Multicouche Ethylene-vinyl acetate / Polyéthylène, PVC hard = PVC non plastifié, EVOH = Ethylene vinyl alcohol copolymer), documentation Topas (53)	54
Figure 9 : Structure moléculaire de l'Irganox 1010	55
Figure 10 : Structure moléculaire de l'HydroxyToluène Butylé (BHT)	55
Figure 11 : Schématisation d'un composé élastomérique obtenu après l'étape de vulcanisation	57
Figure 12 : Structure moléculaire du polypropylène	63
Figure 13 : Formule chimique du PVC	67
Figure 14 : Coefficients de partage octanol/eau des molécules présentant des risques d'ab/adsorption lors du stockage dans un conditionnement en PVC (synthèse des données disponibles sur la base de données Stabilis (39))	69

Figure 15 : Impact du plastifiant du PVC sur le phénomène de sorption d'après Treleano <i>et al.</i> (88) (DEHP=Di-(2-ethylhexyl) phtalate ; TEHTM=Trimethyl trimellitate ; DINCH=1,2-cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester, DEHA=Bis(2-ethylhexyl) adipate, DEHT= di-(2-ethylhexyl) terephthalate)	70
Figure 16 : Structure moléculaire du polyéthylène	73
Figure 17 : Structure du HDPE et du LDPE d'après Sepe (107).....	74
Figure 18 : Structure moleculaire de l'EVA (n et m représentent la répétition de chaque monomère).....	76
Figure 20 : Pompe péristaltique Baxa Repeater [®] et adaptateur pour le remplissage des seringues.....	79
Figure 21 : Pompe Flexicon [®] avec sa double série de galets	79
Figure 22 : Systèmes de remplissage à piston ICU Diana [™] et Medoc 4 voies	80
Figure 19 : Automate de préparation I.V.Station ONCO [™]	82
Figure 23 : Flacons Crystal [®] clos, stérilisés et prêts à remplir.....	84
Figure 24 : Flacon Crystal [®] rempli après mise en place du « flip-off ».....	84
Figure 25 : Ligne automatisée de remplissage L1 Robot Line	85
Figure 26 : Schématisation du processus de remplissage.....	85
Figure 27 : Ligne polyvalente de remplissage SL1 Robot Line	87
Figure 28 : Coefficients de partage octanol / eau prédits pour les différents cytotoxiques étudiés.....	90
Figure 29 : Résumé des étapes nécessaires à la préparation des échantillons de cytotoxiques	95
Figure 30 : Chromatogrammes obtenus lors de l'analyse par HPLC/MS/MS des 8 molécules cytotoxiques	96
Figure 31 : Stabilité du méthotrexate conservé en flacon Crystal [®]	97
Figure 32 : Stabilité de la gemcitabine conservée en flacon Crystal [®]	98
Figure 33 : Stabilité du paclitaxel conservé en flacon Crystal [®]	98
Figure 34 : Stabilité de l'étoposide conservé en flacon Crystal [®]	99

Figure 35 : Stabilité de l'épirubicine conservée en flacon Crystal [®]	99
Figure 36 : Stabilité de l'ifosfamide conservé en flacon Crystal [®]	100
Figure 37 : Stabilité de l'irinotecan conservé en flacon Crystal [®]	100
Figure 38 : Stabilité de la vincristine conservée en flacon Crystal [®]	101
Figure 39 : Tests de corrélation entre le coefficient de partage octanol/eau et les concentrations à J62	102
Figure 40 : Déroulement de l'étude de stabilité sur 24 heures, exemple du cisplatine	107
Figure 41 : Spectre RMN de la solution de carboplatine à 10mg/mL	108
Figure 42 : Spectre RMN de la solution à 5mg/mL d'oxaliplatine.....	109
Figure 43 : Chromatogramme d'une solution d'insuline (1UI/mL, tr=1,97min), de phénol (0,017 mg/mL, tr=0,99min) et de métacrésol (0,015 mg/mL, tr=1,58min)	116
Figure 44 : Résultats des études de stabilité de l'insuline en flacons Crystal [®] et en seringues en PP	118
Figure 45 : Résultats des études de stabilité du phénol en flacons Crystal [®] et en seringues en PP	119
Figure 46 : Résultats des études de stabilité du métacrésol en flacons Crystal [®] et en seringues en PP	121
Figure 47 : Structure moléculaire et coefficient de partage octanol/eau du phénol, du métacrésol et du 2-méthoxyphénol	123
Figure 48 : Concentration en métacresol dans des flacons en verre fermés par différents types de bouchons sur 50 jours (moyenne sur n=6, les écart-types sont intégrés mais trop faibles pour être visibles).....	126
Figure 49 : Fonctionnement du système QICPIC : (A) Le flux de particules passe à travers une lentille, (B) une caméra haute fréquence enregistre le passage des particules, les images sont ensuite analysées	132
Figure 50 : Comparaison visuelle des flacons à J7 lors de la conservation d'eau pour préparations injectables et de solution à pH 12 dans les flacons Crystal [®]	136
Figure 51 : Observation macroscopique des 20mL de la solution à pH 12 recueillis dans 10 flacons Crystal [®] conservés 7 jours (droits et retournés).....	136

Figure 52 : Caractérisation des particules par analyse QICPIC	137
Figure 53 : Résultats des ATG réalisées sur un échantillon de bouchons Crystal [®] standards et sur les particules lyophilisées observées en milieu basique. Les courbes vertes représentent les suivis de la masse des échantillons en fonction de la température. Les fonctions dérivées sont représentées sur les courbes bleues.....	139
Figure 54 : Montage à reflux utilisé pour l'extraction des différents matériaux du flacon Crystal [®] (ici le corps en COC)	145
Figure 55 : Résidus présents dans les cristallisoirs après la phase d'extraction dans l'isopropanol	147
Figure 56 : Observations macroscopiques des flacons et des bouchons avant et après le processus d'extraction.....	147
Figure 57 : Spectres RMN des produits extraits, recherche de DEHT (Attention : la quantité a été calculée en prenant en compte la dilution, il ne faut donc pas se fier à l'échelle du spectre)	149
Figure 58 : Spectres RMN du DEHP et du DINP purs en comparaison avec l'analyse des produits extraits provenant du corps en COC du flacon Crystal [®]	150
Figure 59 : Structures chimiques du céfuroxime et du descarbamoyl-céfuroxime caractérisé par l'absence du groupement amide	157
Figure 60 : Chromatogramme initial (A) et résultats de la dégradation forcée du céfuroxime à 10mg/mL (B, C et D).....	160
Figure 61 : Profils de stabilité du céfuroxime et de son principal produit de dégradation à -20°C	161
Figure 62 : Profils de stabilité du céfuroxime et de son principal produit de dégradation à +5°C	162
Figure 63 : Profils de stabilité du céfuroxime et de son principal produit de dégradation à +25°C/60%RH.....	164
Figure 64 : Chromatogramme d'une solution de midazolam à 10µg/mL et du diazépam (étalon interne) à 7,5µg/mL (tr=2,3 min : midazolam ; tr=4,9 min : diazépam)	169
Figure 65 : Chromatogrammes obtenus lors des études de dégradations forcées sur une solution à 10µg/mL de midazolam (MDZ=midazolam).....	170
Figure 66 : Stabilité de la solution de midazolam (1mg/mL) lors de la conservation en seringues et en flacons Crystal [®] à -20°C	172

Figure 67 : Stabilité de la solution de midazolam (1mg/mL) lors de la conservation en seringues et en flacons Crystal [®] à +5°C	173
Figure 68 : Stabilité de la solution de midazolam (1mg/mL) lors de la conservation en seringues et en flacons Crystal [®] à +25°C/60%RH.....	174
Figure 69 : Structure moléculaire du midazolam en fonction du pH d'après Bianchi <i>et al.</i> (162)	176
Figure 70 : Chromatogrammes obtenus lors de la validation de la méthode et des essais de dégradations forcées sur une solution de noradrénaline à 0,5mg/mL	182
Figure 71 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,5 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 50 mL à - 20°C en fonction de la durée de conservation..	184
Figure 72 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,5 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 50 mL à + 5°C en fonction de la durée de conservation...	185
Figure 73 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,5 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 50 mL à + 25°C/60%RH en fonction de la durée de conservation	186
Figure 74 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 50 mL à - 20°C en fonction de la durée de conservation..	188
Figure 75 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 50 mL à + 5°C en fonction de la durée de conservation...	189
Figure 76 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 50 mL à + 25°C/60%RH en fonction de la durée de conservation	190
Figure 77 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 20 mL à - 20°C en fonction de la durée de conservation..	192
Figure 78 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 20 mL à + 5°C en fonction de la durée de conservation...	193
Figure 79 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal [®] de 20 mL à 25°C/60%RH en fonction de la durée de conservation	194
Figure 80 : Comparaison des stabilités de la solution de noradrénaline (0,2mg/mL) dans des conditionnements de 20mL et de 50mL (*=différence significative au risque $\alpha=5\%$).....	196

Figure 81 : Comparaison des stabilités de la solution de noradrénaline dosée à 0,2mg/mL et à 0,5mg/mL dans des conditionnements de 50mL (*=différence significative au risque $\alpha=5\%$)	197
Figure 82 : Différence de coloration lors du stockage des flacons et des seringues à +5°C et à +25°C/60%RH d'une solution de noradrénaline (0,5mg/mL).....	200
Figure 83 : Comparaison des espaces occupés par les conditionnements remplis (en cm ³) (seringue BD Plastipak 50/60mL et flacon Crystal [®] de 50mL)	204

Liste des tableaux

Tableau 1 : Risques liés à la voie d'administration et au conditionnement (traduit de FDA (32)).....	37
Tableau 2 : Evolution des limites (en $\mu\text{g}/\text{jour}$ et $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{jour}$) définissant le risque toxique d'un produit migrant du contenant vers le contenu, traduit de Paskiet <i>et al.</i> (35)	44
Tableau 3 : Comparaison des propriétés physiques des polymères utilisables pour la fabrication de poches traduit de Sacha <i>et al.</i> (60).....	67
Tableau 4 : Spécialités cytotoxiques utilisées et formulations galéniques	92
Tableau 5 : Concentration cible (en ng/mL) en fonction de la molécule	94
Tableau 6 : Calcul de l'erreur totale obtenue lors de la quantification des 8 cytotoxiques	96
Tableau 7 : Attribution et intégration des protons du spectre du carboplatine	108
Tableau 8 : Intégration des signaux de la solution de carboplatine à 5 mg/mL	109
Tableau 9 : Attribution et intégration des protons du spectre de l'oxaliplatine	110
Tableau 10 : Intégration des signaux de la solution d'oxaliplatine à 10 mg/mL	110
Tableau 11 : Intégration des signaux de la solution de cisplatine à 1 mg/mL	111
Tableau 12 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage de l'insuline	116
Tableau 13 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage du phénol	117
Tableau 14 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage du métacrésol	117
Tableau 15 : Evolution de la concentration en insuline lors de la conservation à 5°C (n=3).....	117
Tableau 16 : Evolution de la concentration en insuline lors de la conservation à 25°C/60%RH (n=3)	117
Tableau 17 : Evolution de la concentration en phénol lors de la conservation à 5°C (n=3).....	118

Tableau 18 : Evolution de la concentration en phénol lors de la conservation à 25°C/60%RH (n=3)	119
Tableau 19 : Evolution de la concentration en métacrésol lors de la conservation à 5°C (n=3).....	120
Tableau 20 : Evolution de la concentration en métacrésol lors de la conservation à 25°C/60%RH (n=3)	120
Tableau 21 : Evolution de la concentration en métacrésol lors de la conservation à 25°C/60%RH (n=6 pour chaque condition).....	126
Tableau 22 : Résultats de contamination particulaire lors de la conservation dans de l'EPPI.....	130
Tableau 23 : Résultats de la contamination particulaire lors de la conservation dans de l'HCl 0,01N	130
Tableau 24 : Résultats de la contamination particulaire lors de la conservation dans du NaOH 0,01N.....	130
Tableau 25 : Evolution du pH durant les 7 jours d'études	135
Tableau 26 : Comparaison du nombre de particules analysées dans le prélèvement de 20mL provenant des 10 flacons Crystal® en fonction du type de solution conditionnée (EPPI ou solution à pH 12) et de la position du flacon	137
Tableau 27 : Bilan massique après évaporation de l'isopropanol	146
Tableau 28 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage de la solution de céfuroxime	160
Tableau 29 : Evolution des concentrations de céfuroxime dans les flacons conservés droits ou retournés et dans les seringues lors du stockage à -20°C	161
Tableau 30 : Evolution des concentrations de céfuroxime dans les flacons conservés droits ou retournés et dans les seringues lors du stockage à +5°C	162
Tableau 31 : Evolution des concentrations de céfuroxime dans les flacons conservés droits ou retournés et dans les seringues lors du stockage à +25°C et 60% RH	163
Tableau 32 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage de la solution de midazolam	171
Tableau 33 : Résultats des dosages de la solution de midazolam (1mg/mL) obtenus lors de la conservation à -20°C (* = différence significative).....	172

Tableau 34 : Résultats des dosages de la solution de midazolam (1mg/mL) obtenus lors de la conservation à +5°C (* = différence significative).....	173
Tableau 35 : Résultats des dosages de la solution de midazolam (1mg/mL) obtenus lors de la conservation à +25°C/60%RH (* = différence significative)	174
Tableau 36 : Nombre moyen de particules (par type de conditionnement) de plus de 10µm et 25µm à J365	175
Tableau 37 : Résultats des mesures de pH des solutions de midazolam à J0 et J365	176
Tableau 38 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage de la solution de noradrénaline	183
Tableau 39 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,5 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à -20°C (* = différence significative)	184
Tableau 40 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,5 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à +5°C (* = différence significative)	185
Tableau 41 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,5 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à +25°C/60%RH (* = différence significative).....	186
Tableau 42 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à -20°C (* = différence significative)	188
Tableau 43 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à +5°C (* = différence significative)	189
Tableau 44 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à +25°C/60%RH (* = différence significative).....	190
Tableau 45 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 20mL) obtenus lors de la conservation à -20°C (* = différence significative)	192
Tableau 46 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 20mL) obtenus lors de la conservation à +5°C (* = différence significative)	193

Tableau 47 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 20mL) obtenus lors de la conservation à +25°C/50%RH (* = différence significative).....	194
Tableau 48 : Evolution du pH au cours de la conservation des solutions de noradrénaline	198
Tableau 49 : Résultats par conditionnement des mesures de la contamination particulaire (le résultat noté en gras est non conforme aux critères de la Pharmacopée Européenne (4)).....	198

Avant-propos

En milieu hospitalier, l'utilisation de médicaments destinés à la voie parentérale est très fréquente. Malheureusement, il existe de nombreux exemples de produits qui ne sont pas prêts à l'emploi et qui nécessitent des étapes de prélèvements, reconstitution et dilution, réalisées extemporanément par l'infirmière, avant l'administration au patient.

La centralisation à la pharmacie de certaines de ces préparations parentérales fait partie intégrante de l'amélioration et de la sécurisation du circuit des médicaments. Par ce biais, le pharmacien hospitalier offre au personnel soignant la possibilité de s'affranchir des étapes souvent chronophages et stressantes de la préparation, tout en libérant plus de temps aux soins du patient.

Par ailleurs, la littérature met en avant les avantages pour le patient d'une préparation sous responsabilité pharmaceutique par l'amélioration de la qualité chimique (bon produit, bonne dose) et microbiologique (maîtrise de la stérilité).

En réalisant à la pharmacie ces préparations en grande quantité (*i.e* en lot) avant d'être dispensées aux services de soins, le pharmacien hospitalier prend, en accord avec les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) (1), la responsabilité de la qualité et de la stabilité de la préparation tout au long de la période de conservation.

Cette stabilité est évidemment conditionnée par le potentiel de dégradation de la molécule, mais aussi par les éventuelles conséquences liées aux interactions contenu-contenant avec les matériaux du conditionnement.

Pour de nombreux matériaux utilisés depuis longtemps dans le domaine pharmaceutique [Polychlorure de vinyle (PVC), Polypropylène (PP) et Polyéthylène (PE)] le pharmacien peut se reposer sur une littérature riche, détaillant les avantages et limites des différents conditionnements. En revanche, lorsque le conditionnement et les matériaux utilisés sont innovants, les données de stabilités sont limitées. Dans ce cas, le pharmacien doit souvent faire ses propres études de stabilité afin d'assurer la complète compatibilité du produit avec le nouveau matériau.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons ainsi évalué un nouveau système de conditionnement primaire innovant, le flacon clos Crystal[®] commercialisé par la société Aseptic Technologies (Gembloux, Belgique), caractérisé à la fois par le choix d'un polymère plastique spécifique (polymère d'oléfinés cycliques) pour la fabrication du corps du flacon et par la technologie de remplissage permettant un gain d'assurance qualité dans le processus aseptique ainsi qu'une automatisation de la production (figure 1).



Figure 1 : Flacons clos Crystal[®] et système de remplissage automatisé

La partie générale de ce travail débute par un rappel théorique sur les risques liés à la préparation dans le service de soins et les avantages d'une préparation à la pharmacie. Puis un état des lieux des risques d'interactions est dressé en fonction du type de conditionnement et des matériaux couramment utilisés. Enfin, une description des différentes possibilités de remplissage aseptique est faite afin de situer la place de la technologie Crystal[®] étudiée.

La partie expérimentale a consisté, dans un premier temps, en la validation des propriétés du flacon Crystal[®] en évaluant les risques de sorptions et de perméation vers le conditionnement et l'extérieur des molécules contenues dans la préparation. Puis nous avons évalué le risque inverse en étudiant la résistance du flacon aux

solutions de pH extrêmes ainsi que le risque de relargage particulière dans la solution. Enfin, en complément des études d'extractibles et de migrants données par le fournisseur, nous avons recherché la présence de plastifiants dans les différents composants constituant le flacon (corps et bouchons).

Cette évaluation des propriétés du flacon Crystal[®] effectuée, nous avons, dans un deuxième temps, réalisé des études de stabilité de 3 médicaments (céfuroxime, midazolam et noradrénaline) sur un an dans diverses conditions de conservation (température et humidité) en comparant les résultats obtenus avec le flacon Crystal[®] (conservé droit et retourné) à ceux obtenus avec la seringue en polypropylène.

L'ensemble des études entreprises a ainsi permis de définir les avantages et les risques, en termes d'interactions contenu-contenant, liés à l'utilisation de la technologie Crystal[®] et ainsi de pouvoir imaginer la mise en place de cet outil dans un service de préparation centralisée des médicaments injectables grâce aux études de stabilité réalisées.

Partie générale

1. Contexte

1.1. Problématique de la préparation des médicaments destinés à la voie parentérale dans les services de soins

En milieu hospitalier, l'utilisation des formes injectables est majoritaire (63,8% de la consommation en France en 2011 (2)) or, tous les produits commerciaux [*i.e* produits ayant reçus une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM)] ne sont pas stable en solution diluée et ne sont donc pas prêts à l'emploi. Ils vont donc nécessiter des étapes de reconstitution et de dilution pour obtenir un produit fini adapté à l'usage thérapeutique.

S'agissant de préparations destinées à être injectées, perfusées ou implantées dans le corps humain, ces médicaments destinés à la voie parentérale doivent conserver leur stérilité lors du processus de préparation et faire état d'une contamination particulière limitée en accord avec les préconisations de la Pharmacopée Européenne (3,4).

Cette « préparation » du médicament pour le patient à partir de spécialités pharmaceutiques vendues par l'industrie pharmaceutique et ayant une AMM peut se faire dans le service de soins. En effet, d'après les Bonnes Pratiques de Préparations (1) il s'agit d'une reconstitution :

« La reconstitution des spécialités pharmaceutiques ou de médicaments expérimentaux est une opération de mélange simple notamment d'une solution, d'une poudre, d'un lyophilisat {...} avec un solvant pour usage parentéral ou non selon les indications mentionnées dans le résumé des caractéristiques du produit, ou le cas échéant, dans le protocole de la recherche biomédicale. La reconstitution peut être effectuée dans les unités de soins selon les Résumés des Caractéristiques du Produit (RCP) ou le protocole de la recherche. »

La reconstitution et la dilution de médicaments injectables sont des étapes complexes et peuvent être sources d'erreurs ayant des conséquences directes sur la qualité finale du produit (qualité chimique et microbiologique). Ces erreurs de préparation sont ainsi responsables d'événements indésirables médicamenteux, c'est-à-dire de dommages survenant chez le patient, liés à sa prise en charge médicamenteuse et résultants de soins inadaptés (5).

Les erreurs de préparations sont essentiellement des erreurs humaines liées aux pratiques ou à l'organisation du circuit du médicament et regroupent les erreurs de dosage et de concentration (qualité chimique), de techniques de préparation, de la maîtrise de la stérilité (qualité microbiologique) et de l'étiquetage.

1.1.1. Qualité chimique

En 2008, Ashram et *al.* (6) ont montré que sur 464 seringues de morphine préparées par 118 professionnels de santé (anesthésistes (n=20), pharmaciens (n=17) et infirmières (n=81), plus d'un tiers ont des concentrations en dehors des 10% de surdosage ou sous-dosage admis.

Ces données ont été confirmées en 2013 par Stucki et *al.* (7) qui ont aussi démontré que sur 500 seringues préparées au bloc opératoire (adultes et pédiatrie), 33% présentaient des doses dépassant les 10% d'erreurs par rapport à la concentration cible attendue. Plus grave, des concentrations de plus du double de la valeur théorique ont été retrouvées dans 4% des préparations. Prenant en compte les molécules évaluées (atracurium, fentanyl, thiopental et lidocaïne), il est évident que le danger existe pour le patient. Les auteurs précisent que le risque d'erreur semble plus élevé lors de la réalisation de forte dilution ou de dilution inhabituelle.

Ce fût le cas en 2012, en Finlande lorsque des troubles visuels graves (diminution de l'acuité visuelle, œdème de la cornée) ont été observés chez 16 patients 24 heures après une opération de la cataracte (8). Suite à des difficultés d'approvisionnement, les infirmières ont utilisé du céfuroxime à la place de la vancomycine pour l'instillation de l'œil après l'acte chirurgical en prophylaxie des endophtalmies. La fiche de fabrication de la solution de céfuroxime à instiller, scannée par un hôpital voisin, a été

mal interprétée et la préparation n'a pas été contrôlée. En conséquence, la solution préparée était dosée à 50 mg/mL au lieu de 0,05 mg/mL et ainsi responsable d'une cytotoxicité sur les cellules endothéliales.

La littérature dans le domaine est riche et le pourcentage d'erreurs lors de la préparation en service de soins est toujours élevé, ainsi en 2001 Ferner *et al.* (9) montrent que sur 184 poches administrées aux patients, seules 37% étaient dans les limites tolérées de 10% et 17 poches présentaient une erreur sur la concentration supérieure à 50%. En 2004, Taxis *et al.* ont estimé à 19% (23/122 préparations) les erreurs de préparation par les infirmières dans des services de soins intensifs et au bloc opératoire. L'erreur principale (20%) concernait les erreurs de choix de solvant, puis venaient ensuite les erreurs de dose (2%) (10).

Plusieurs hypothèses sont envisagées pour expliquer de telles erreurs de dilution. La littérature met ainsi en avant les problèmes de stress, de fortes dilutions et l'utilisation de seringues non adaptées au volume à prélever. En effet, un volume inférieur à 30% du volume nominal de la seringue ne peut être prélevé avec une précision (variation dans le prélèvement) et une justesse (différence entre le volume théorique et le volume réellement prélevé) suffisante (11).

En 2007, Garnerin *et al.* (12) recommandent la rédaction et l'application de protocoles de préparation précisant les modalités de reconstitution (seringue utilisée et volume à préparer) afin de diminuer les erreurs de dilution dans un service d'anesthésiologie.

1.1.2. Qualité microbiologique

En 2006, Vonberg *et al.* (13) ont réalisé une revue de la littérature et de la base de données mondiale des infections nosocomiales « www.outbreak-database.com (14) ». Après avoir étudié 128 articles et 2250 patients, ils ont démontré que 65% des contaminations avaient lieu au lit du patient.

Ces contaminations ont différentes origines (15) et proviennent de l'air environnant, de la manipulation, du site d'injection, de l'ajout de produits annexes et même de l'utilisation de solutions désinfectantes contaminées.

En 2001, puis en 2005, Mansfield et Cousins (16,17) ont analysé les préparations réalisées par les infirmières. Dans les 4 centres hospitaliers évalués, la surface de préparation n'était jamais nettoyée. Le port des gants était extrêmement aléatoire, tout comme le lavage des mains avant la préparation. La désinfection des flacons et du site d'injection n'était peu ou pas faite. Enfin dans 2 hôpitaux, les fenêtres étaient ouvertes la moitié du temps lors des préparations.

Les conséquences peuvent être dramatiques associant bactériémie (18), fièvre (19), choc anaphylactique et décès du patient (20,21).

1.1.3. Etiquetage

La problématique de l'étiquetage est réelle lors de la préparation dans les services de soins.

Dans un audit réalisé en 2005, dans 4 grands centres hospitaliers Européens, Cousins et *al.* (17) ont observé des taux d'étiquetages incomplets importants (respectivement 43%, 99%, et 20% pour le Royaume-Uni, l'Allemagne et la France). Plus grave, en Angleterre 55 préparations ont été administrées plus de 10 minutes après la fabrication sans être étiquetées, laissant une large place aux erreurs d'identification du bon produit au bon patient. De la même manière, en Allemagne, 171 préparations ont été administrées à distance de la préparation et n'étaient pourtant pas étiquetées.

En 2004, Jensen et *al.* ont réalisé une revue systématique de la littérature afin de développer des recommandations pour minimiser les erreurs lors de l'administration de médicaments injectables utilisés en anesthésiologie (22). Sur quatre recommandations classées comme « Fortement recommandé » (taux de preuves le plus important), trois concernent l'étiquetage :

- L'étiquette apposée sur toute ampoule ou seringue doit être lue attentivement avant la préparation ou l'injection
- La lisibilité des étiquettes doit être optimisée selon une approche normative
- Les seringues doivent être étiquetées

Dans ce contexte où les sources d'erreurs sont nombreuses et les conséquences pour le patient possiblement dramatiques, il a été recommandé en 2007 aux industries pharmaceutiques et aux pharmaciens hospitaliers d'essayer de fournir aux services de soins un maximum de préparations prêtes à l'emploi (12).

Cette volonté d'améliorer la prise en charge médicamenteuse du patient par la sécurisation de la préparation des médicaments destinés à la voie parentérale va donc passer par le développement d'unités spécialisées à la pharmacie appelées CIVAS (Centralized IntraVenous Additive Services). Ce sont des services de préparation centralisée de médicaments injectables prêts à l'emploi.

1.2. Développement des unités de préparation des médicaments injectables stériles dans les pharmacies hospitalières

Les médicaments injectables sont donc des produits à haut risque et la reconstitution/dilution dans le service de soins est une étape à risque d'erreurs notamment quand la dilution est complexe et réalisée dans des conditions de stress pour le personnel soignant.

Dans ce contexte, il est recommandé au pharmacien hospitalier d'essayer de fournir ces produits sous une forme prête à l'emploi.

Historiquement, les poches de nutrition parentérale binaires et ternaires ainsi que les chimiothérapies ont été les premières préparations réalisées de manière centralisée à la pharmacie respectivement dans les années 70 et 80. Puis, d'autres produits injectables ont été proposés notamment les antibiotiques, les antiémétiques et les traitements de la douleur fortement utilisés en soins intensifs, en anesthésiologie, dans les services d'urgences, de pédiatrie et d'ophtalmologie.

L'ensemble de ces préparations est donc inclus dans la définition au sens large d'un service de type CIVAS même si, dans le langage courant, le terme désigne plutôt les préparations hors cytotoxiques. De plus, bien qu'il soit possible d'imaginer la fabrication en flux tendu pour chaque patient d'une préparation selon la prescription d'un médecin (*i.e* une préparation magistrale), le terme CIVAS correspond

essentiellement à la fabrication de lot entrant dans un contexte de préparation hospitalière (23).

La centralisation va permettre d'assurer une sécurité optimale car la préparation de médicaments injectables par la pharmacie repose sur un système d'assurance qualité performant, dans le respect de la réglementation (Good Manufacturing Practices (GMP) et Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) en France) incluant le travail en zone à atmosphère contrôlée, la qualification des opérateurs, la traçabilité selon des procédures écrites et archivées.

La qualité chimique et microbiologique ainsi que l'étiquetage sont largement améliorés lors de la préparation centralisée puisqu'ils répondent aux exigences réglementaires. De plus, centraliser ainsi l'activité de préparation à la pharmacie permet de replacer l'infirmier dans son activité de soins aux patients.

Finalement, la centralisation permet une réduction des coûts. Dans son article « Centralized IntraVenous additive services (CIVAS): The state of the art in 2010 » Hecq démontre ainsi que sur 5 antibiotiques couramment utilisés, le coût de préparation par la pharmacie est en moyenne 1,3 euros moins cher que lors de la préparation dans le service par les infirmières (24). Une conclusion similaire est donnée par Plumridge et *al.* qui, en 1993, avait mis en évidence un gain en temps de 18,32 heures pour 100 préparations d'antibiotiques faites en unité centralisée soit un gain de 112\$ par rapport à une préparation par les infirmières. Le calcul prenait en compte le coût du travail ainsi que le coût des consommables (25). Pour l'hôpital, le développement d'unité CIVAS est une façon de limiter le gaspillage (notamment lors de l'utilisation de flacons en pédiatrie).

En 2009, la pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève (26) propose une approche spécifique afin de définir et de prioriser en fonction des besoins, mais aussi des capacités de la pharmacie, la légitimité d'une préparation dans une unité centralisée. Quatre règles à suivre sont ainsi définies avant de se lancer dans la préparation centralisée :

- Classification des demandes en fonction de la criticité

- Détermination de la faisabilité en fonction des durées de stabilité et des capacités de production
- Développement d'un partenariat avec un partenaire industriel si la demande est suffisante
- Préparation à la pharmacie si le partenariat n'est pas envisageable

Suivant ce processus, plusieurs préparations à destination des services de soins ont été développées :

- Isoprénaline 0,1mg/mL 50mL
- Vancomycine néonatale 50mg/10mL
- Ephédrine 20mg/2mL
- Atropine 1mg/10mL
- Phényléphrine 1mg/10mL
- Insuline 1UI/50mL
- Kétamine 10mg/mL 20ml
- Noradrénaline 0,5mg/mL

Depuis les années 2000, d'autres études de stabilité ont été publiées afin d'aider le pharmacien hospitalier à mettre en place la préparation de produits prêts à l'emploi :

- Flacons prêts à l'emploi d'amiodarone à 12,5 mg/mL dans le glucose 5% (G5%) (27)
- Poche de 100 mL (NaCl 0,9% et G5%) de témocilline à 20 mg/mL (28)
- Poche de 100mL (G5%) de céfuroxime à 15 mg/mL (29)

Ces nombreux exemples de préparations centralisées démontrent que le terme CIVAS ne désigne pas un conditionnement type, et regroupe l'utilisation de multiples conditionnements primaires tels que les flacons, les seringues, les poches et les ampoules.

Ces conditionnements primaires forment ainsi un large panel de matériaux utilisables (composés élastomériques, plastique, verre). De plus, ces matériaux ne sont jamais purs, ainsi des additifs peuvent être ajoutés à la composition initiale des matériaux

pour améliorer certaines caractéristiques physico-chimiques (plastifiants pour le PVC, oxydes boriques pour le verre).

Ainsi, durant toute la durée de vie du médicament, la préparation parentérale va être en contact avec un ensemble varié de composés chimiques provenant du conditionnement primaire. Ce contact prolongé n'est pas sans risque et il est du devoir du pharmacien de s'assurer de l'absence d'interactions qualifiées de « contenu-contenant » afin de maîtriser la qualité de son produit. Ces risques d'interactions contenu-contenant rendent en effet difficile l'extrapolation des études de stabilité entre des conditionnements de matériaux différents.

2. Interactions contenu-contenant

2.1. Description et aspects fondamentaux

Dans l'industrie pharmaceutique, la maîtrise des interactions entre le conditionnement primaire et la préparation parentérale est une obligation réglementaire pour la demande d'autorisation de mise sur le marché ainsi que durant toute la durée de vie du produit en cas de modification du conditionnement primaire. Il s'agit de s'assurer de la compatibilité physique et chimique entre le médicament et son conditionnement afin d'assurer à la préparation 2 points critiques : la qualité et la sécurité (30).

Il en est de même pour le pharmacien hospitalier voulant réaliser des préparations puisque les Bonnes Pratiques de Préparation précisent :

- *Le pharmacien effectue une vérification de la conformité des articles de conditionnement par rapport aux monographies de la pharmacopée européenne*
- *Les conditionnements primaires sont adaptés aux formes galéniques qu'ils sont destinés à contenir (quantité, qualité, dimensions) tout en évitant les interactions contenant/contenu*

La compatibilité est définie dans la Pharmacopée Européenne (monographie 3.2.2. : Récipients et fermetures en matière plastique pour usage pharmaceutique (31)) comme permettant de :

- S'assurer qu'il ne se produit pas de changement préjudiciable à la qualité de la préparation
- Vérifier l'absence de tout changement des caractères physiques
- Évaluer les pertes ou les gains éventuels par suite de la perméabilité du récipient
- Rechercher des modifications du pH
- Évaluer des modifications pouvant intervenir sous l'action de la lumière, essais chimiques et, dans les cas appropriés, essais biologiques

Le premier critère défini la notion de « changement préjudiciable », il est évident que cela sera directement fonction de la voie utilisée, des changements sans impact pour une voie orale peuvent être critiques pour une voie injectable. D'après la Food and Drug Administration (FDA), les formes injectables sont les produits les plus à risques d'interactions contenu-contenant et les conséquences liées à cette voie d'administration sont possiblement les plus graves (tableau 1).

Tableau 1 : Risques liés à la voie d'administration et au conditionnement (traduit de FDA (32))

Degré de préoccupation associé à la voie d'administration	Probabilité d'interactions contenu-contenant		
	Haute	Moyenne	Faible
Le plus important	Aérosols et solutions inhalés Solutions et suspensions injectables	Poudres stériles et poudres pour injection Poudres pour inhalation	
Important	Solutions et suspensions ophtalmiques Préparations cutanées semi-solides et patchs transdermiques Sprays et aérosols pour voie nasale		
Faible	Solutions et suspensions pour voie topique Solutions et suspensions pour voie orale Aérosols pour voie topique et linguale	Poudres pour voie topique Poudre pour voie orale	Gélules, capsules molles et comprimés pour voie orale

Bien que la preuve de la compatibilité soit demandée pour la mise sur le marché, il n'y a pas de textes réglementaires définissant les essais à réaliser. Le conditionnement doit, certes, répondre aux exigences des différentes Pharmacopées sur les monographies existantes liées au type de conditionnement et aux matériaux, mais

même si le dispositif est conforme cela n'exempte pas des essais de compatibilité et donc d'évaluer les risques d'interactions contenu-contenant.

Les recommandations actuellement utilisées pour l'évaluation des interactions spécifiques aux conditionnements pharmaceutiques sont peu nombreuses.

On retrouve essentiellement :

- European Medicines Agency (EMA) « Guideline on the Plastic Immediate Packaging Materials. European Medicines Agency » (33)
- Food and Drug Administration (FDA) « Guidance for industry, container closure systems for packaging human drugs and biologics » (32)
- Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) « Guidance for container-content interaction studies » (34)

L'évaluation du risque d'interaction contenu-contenant doit être réalisée au vu des connaissances sur le matériau utilisé, sur son processus de fabrication et de la formulation du produit devant être conditionné.

Le terme interaction contenu-contenant définit un ensemble de phénomènes (figure 2) pouvant conduire à une modification physico-chimique de l'élément conditionné.

On retrouve 2 grandes familles :

- Phénomènes de migration du produit vers le contenant
(1a, b et c dans la figure 2)



- Phénomènes de migration du contenant vers le contenu
(2 et 3 dans la figure 2)



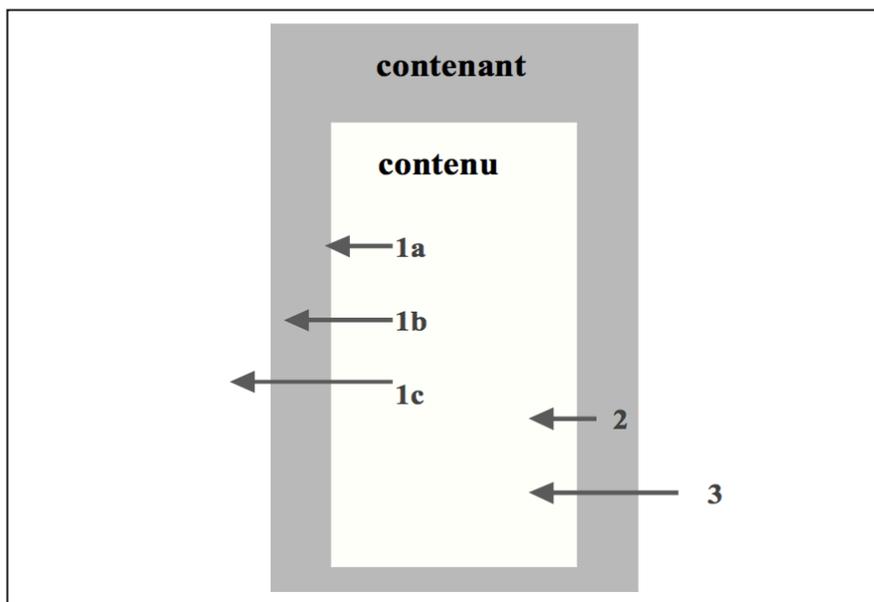


Figure 2 : Les différents phénomènes d'interaction contenant- contenu. 1. Migration du produit vers le contenant : a) adsorption, b) absorption, c) perméation. 2. Migration du contenant vers le contenu : relargage. 3. Passage du gaz ou du liquide à travers la paroi du contenant : perméabilité. (d'après « Interaction contenant-contenu » Commission SFSTP (34))

2.2. Migration du contenu vers le contenant et l'extérieur

Les phénomènes de migration du contenu vers le contenant et l'extérieur sont certainement les interactions les plus documentées. Elles conduisent à une baisse d'efficacité du produit par diminution de la concentration en principe actif.

Ces phénomènes ne concernent pas uniquement le principe actif et peuvent aussi conduire à une diminution de certains excipients ou du diluant contenu dans la formulation galénique, ce qui peut entraîner des instabilités et donc indirectement une diminution de l'activité.

On retrouve 3 grands types de migration selon la capacité des éléments du contenu à s'intégrer à la matrice du conditionnement (figure 3).

2.2.1. Adsorption

L'adsorption est un phénomène de surface par lequel des atomes ou des molécules de gaz ou de liquides (adsorbats) se fixent sur une surface solide (adsorbant) selon

divers processus plus ou moins intenses comme les interactions de Van der Waals ou les interactions dipolaires.

Le phénomène d'adsorption conduit à une diminution de l'adsorbat dans la solution. Il s'agit d'un phénomène réversible et les molécules adsorbées peuvent retourner en solution dans certaines conditions de température, de pression ou lors du changement de propriétés du solvant.

2.2.2. Absorption

A l'inverse de l'adsorption, l'absorption est le processus par lequel des molécules mises en contact avec un matériau solide s'incorpore dans la totalité de son volume (*i.e* en profondeur dans le conditionnement). Le phénomène peut aussi être réversible.

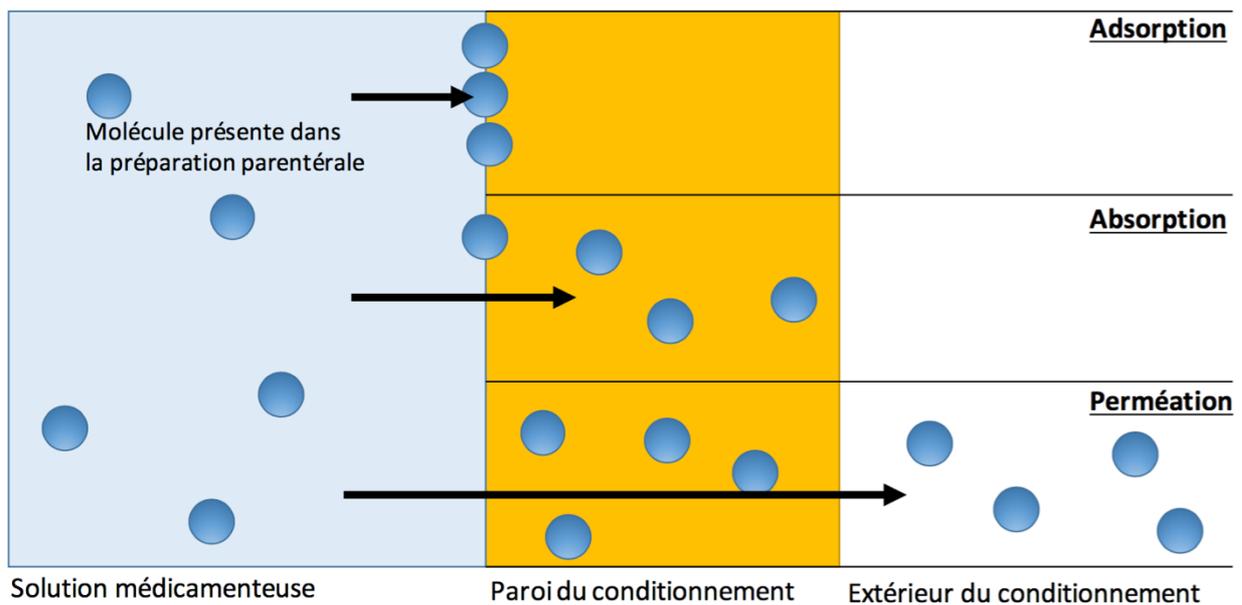


Figure 3 : Représentation schématique du phénomène d'adsorption, d'absorption et de perméation

2.2.3. Perméation

La perméation est le processus par lequel des molécules de gaz ou de liquide mis en contact avec un matériau solide s'incorporent dans la totalité de son volume, diffusent dans la phase solide puis se désorbent dans le côté opposé. Le phénomène est

irréversible, les molécules perdues ne peuvent plus revenir dans la solution médicamenteuse.

En pratique, les phénomènes d'ad/absorption et de perméation sont facilement observables par le suivi des concentrations (baisse des concentrations) par des techniques analytiques adaptées, en s'assurant évidemment de l'absence de phénomènes de dégradation et de précipitation. Ces phénomènes étant dépendants des matériaux utilisés des exemples précis seront détaillés par la suite pour chaque type de conditionnement.

2.3. Migration du contenant et de l'extérieur vers le contenu

La migration de produits du contenant et/ou de l'extérieur vers le contenu va caractériser l'apparition dans la préparation parentérale d'éléments étrangers à la formulation galénique initiale. Ces éléments qui peuvent être solubles ou particuliers peuvent provenir du conditionnement lui-même via un phénomène appelé « relargage ».

Si les éléments proviennent de l'extérieur (typiquement l'eau ou l'air) on parlera de perméabilité du conditionnement (figure 2). A des degrés divers, tous les matériaux plastiques sont ainsi perméables à l'air (et donc à l'oxygène) et à la vapeur d'eau. A l'inverse le verre est un matériau quasi-imperméable à l'eau et au gaz.

Lors de la migration d'éléments appartenant au conditionnement, les produits relargués peuvent avoir une toxicité directe (exemple des phtalates dans les conditionnements en PVC) mais peuvent aussi être responsables de réactions croisées au cours desquelles les produits relargués par le conditionnement vont venir réagir chimiquement avec le principe actif ou les excipients entraînant une inactivation ou une dégradation du produit, de manière directe ou indirecte. Les produits extraits peuvent aussi être responsables d'effets secondaires physico-chimiques sans impact direct sur le principe actif (exemple de l'apparition d'une coloration).

Les substances extraites du conditionnement primaire par la solution médicamenteuse peuvent ainsi modifier la sécurité et l'efficacité du produit comme nous le détaillerons par la suite pour les différents matériaux utilisés pour le conditionnement.

L'observation de ces phénomènes de migration va s'effectuer par le suivi de paramètres physico-chimiques généraux tels que le pH, l'osmolarité, les observations macroscopiques de limpidité et de couleurs ainsi que par le suivi des particules non-visibles. Ces paramètres ne sont pas malheureusement pas spécifiques et ne donnent pas d'informations concernant l'identité chimique des éléments relargués. L'obtention de ces informations va se faire par la réalisation d'études spécifiques comprenant l'identification des extractibles, la réalisation d'études de migration et l'évaluation de la toxicité des migrants (32,33).

Dans l'analyse des migrants, l'étude d'extraction contrôlée est l'étape initiale pour évaluer le profil des extractibles possibles et ainsi anticiper les potentiels migrants par la réalisation de dosages avec les techniques analytiques adaptées tout au long de la vie du médicament.

Le Product Quality Research Institute (PQRI) Parenteral and Ophthalmic Drug Products (PODP) Leachables and Extractables Working Group (35) a ainsi développé un protocole expérimental pour la mise en place d'études d'extractibles [produits extraits en conditions extrêmes (solvant, température, temps)] et de migrants (produits pouvant s'extraire dans les conditions normales d'utilisation du produit commercial).

La recherche et l'analyse des extractibles passent ainsi par une série d'étapes comprenant une phase d'extraction puis d'identification et de quantification.

L'étape d'extraction repose sur l'utilisation de solvants organiques et aqueux. Les produits extraits sont ensuite caractérisés par des techniques analytiques complémentaires (qualifiées d'orthogonales) permettant l'analyse des molécules volatiles, semi-volatiles et non-volatiles.

Pour l'extraction, les techniques utilisées sont : le reflux, le soxhlet et l'ultrasons à l'aide de solvants organiques (dichlorométhane, isopropanol et hexane) et aqueux (eau à pH 2,5 ; eau à pH 9) ou un mélange équivolumique isopropanol / eau.

Les méthodes recommandées pour l'identification et la quantification des produits extraits sont les suivantes :

- Chromatographie en phase gazeuse associée à la détection par ionisation de flamme (GC/FID) ou à la spectrométrie de masse (GC/MS) associées ou non à des systèmes d'injection en espace de tête (Headspace Sampler/Injector) pour les éléments volatils.
- Chromatographie liquide associée à la détection UV par barrette de diodes (LC/DAD) ou à la spectrométrie de masse (LC/MS)
- Spectrométrie par torche à plasma associée à la spectrométrie d'émission atomique (ICP/AES) ou à la spectrométrie de masse (ICP/MS)

Le choix des techniques sera bien évidemment fonction de la nature des extractibles (molécules volatiles, semi-volatiles, non-volatiles ou analyse élémentaire).

Finalement, concernant la toxicité des migrants, le groupe de travail sur les produits à usage parentéral et ophtalmique (The Product Quality Research Institute, PQRI) ont défini un seuil (« treshold » en anglais) appelée « Safety Concern Threshold » (SCT). Il est défini comme le seuil à laquelle l'élément migrant va avoir une quantité si faible que les risques, quelle que soit sa toxicité initiale, sont considérés comme négligeables (tableau 2).

Tableau 2 : Evolution des limites (en µg/jour et µg/kg/jour) définissant le risque toxique d'un produit migrant du contenant vers le contenu, traduit de Paskiet *et al.* (35)

Classe	Seuil	
	µg/jour	µg/kg/jour (adulte)
Classification initiale pour les produits pour usage parentéral et ophtalmique (d'après le PQRI)		
1 (toxicité faible)	150	3
2 (toxicité modérée)	50	1
3 (toxicité forte)	5	0,1
4 (génétoxique)	0,15	0,003
Classification actuelle pour les produits pour usage parentéral et ophtalmique (d'après le PQRI)		
1 (toxicité non spécifique)	150	3
2 (sensibilisants)	5	0,1
3 (génétoxique, SCT)	1,5	0,003

En conséquence de ces phénomènes d'interactions contenu-contenant, le risque pour la préparation existe et sera fonction des matériaux utilisés.

Dans le cadre d'une unité de préparation centralisée, le choix du conditionnement primaire doit se faire en connaissance des risques encourus.

3. Dispositifs utilisables en CIVAS, matériaux utilisés et risques d'interactions

On retrouve 4 grands types de conditionnements pouvant être utilisés dans le cadre d'une unité de production hospitalière centralisée (flacons, poches, seringues, ampoules).

La Pharmacopée Européenne définit les caractéristiques générales des différents conditionnements :

- 3.2.1. Récipients de verre pour usage pharmaceutique
- 3.2.2. Récipients et fermetures en matière plastique pour usage pharmaceutique
 - 3.2.2.1. Récipients en matière plastique destinés au conditionnement des solutions aqueuses pour perfusion
- 3.2.8. Seringues en matière plastique non réutilisables, stériles
- 3.2.9. Fermetures en caoutchouc pour récipients destinés aux préparations parentérales aqueuses, aux poudres et aux poudres cryodesséchées

En termes d'interactions contenu-contenant, chaque conditionnement, en fonction des matériaux utilisés, va présenter un profil de risques différent. Pour chaque type de conditionnement, les principaux matériaux utilisés seront définis et les risques d'interactions potentielles détaillés. Pour chaque conditionnement, les risques d'interaction ne seront évidemment pas repris pour les matériaux en commun.

3.1. Flacons

Le flacon est le conditionnement primaire le plus fréquemment utilisé dans l'industrie pharmaceutique.

Pendant des décennies, le verre a été le matériau le plus utilisé pour la fabrication des conditionnements primaires pour les préparations destinées à la voie parentérale. Le verre est en effet facilement disponible, résistant, relativement inerte, facile à travailler (moulable) à la taille et à la forme voulue. Il est, de plus, facile à laver et à stériliser (36).

Actuellement, le développement de résines plastiques ayant d'excellentes propriétés optiques et une meilleure résistance mécanique a permis l'essor des flacons plastiques notamment avec le développement depuis les années 2000 de polymères plastiques de la famille des polymères cycliques d'oléfines.

Les flacons Crystal[®] étudiés dans cette thèse présentent un corps fabriqué dans l'un de ces nouveaux plastiques appelé COC (cyclic olefin copolymer).

Le flacon, qu'il soit en verre ou en plastique, va nécessiter la mise en place d'un bouchon en composé élastomérique. En termes d'interactions, il s'agit de l'élément le plus à risque et doit être attentivement surveillé lors du conditionnement de préparations destinées à la voie parentérale.

3.1.1. Verre

Le verre est un produit dont l'élément de base est le silicium. Cet élément se retrouve sous la forme de silice (*i.e* dioxyde de silicium, SiO₂) ou de sels dérivés intégrant des atomes métalliques appelés silicates. Le verre a longtemps été défini comme le

matériau de choix pour les préparations injectables de petit volume. Il est composé de dioxine de silicium et d'une multitude d'autres oxides (sodium, potassium, magnésium, aluminium, bore et fer). Le réseau principal est ainsi constitué des tétraèdres de silice auxquels sont ajoutés des modificateurs de réseau tels que l'oxyde de bore ou l'oxyde disodique. On retrouve aussi des stabilisants (oxyde de calcium et d'aluminium) pour accroître la résistance et des colorants (oxyde ferrique et oxyde de titane).

La Pharmacopée Européenne décrit 3 types de verre (37) (monographie 3.2.1 Récipients de verre pour usage pharmaceutique) :

Le verre de type I est un verre borosilicaté composé principalement de silice (81%), d'oxyde borique (13%) et d'agents modificateurs de réseau en faible quantité. C'est un verre inerte (résistance hydrolytique élevée) induisant peu de phénomènes de relargage et possédant un faible coefficient d'expansion thermique. Le verre de type I est adapté aux préparations pour usage parentéral.

A contrario, les verres de type II (sodo-calcique avec traitement de surface) et III (sodo-calcique) contiennent des quantités relativement importantes (20%) d'oxyde sodique et calcique rendant le verre moins résistant. Le verre de type II est traité par des agents désalcalinisants (dioxyde de soufre) neutralisant la surface et augmentant ainsi la résistance chimique. Néanmoins, le traitement de surface n'est pas une solution aussi efficace que le traitement « dans la masse » du verre type I, puisque la multiplication des processus de stérilisation et les solutions basiques vont venir altérer ce traitement. Le verre sodo-calcique de type II est adapté au conditionnement de la plupart des préparations aqueuses acides et neutres destinées à la voie parentérale. En revanche le verre de type III ne conviendra pas au conditionnement de préparations parentérales.

Selon le volume du flacon souhaité, il existe 2 techniques de fabrication, la fabrication à partir de tubes (en anglais « glass tubing vials », petit volume, meilleure transparence et moins épais) ou le moulage (en anglais « molding vials »). La fabrication à partir de tubes repose sur l'utilisation de tubes de verre du diamètre voulu pour le futur flacon. Durant ce processus de fabrication l'étape de lissage du fond du flacon nécessite de chauffer fortement, ce qui favorise la vaporisation de certains

oxydes rendant la surface plus rugueuse avec une composition chimique différente du reste du corps, moins résistante et moins inerte chimiquement. Pour limiter ce phénomène directement lié à la température, les fabricants de flacons ont développé des processus à basse température (en anglais « cold forming process ») améliorant la résistance et le risque de migration. Les flacons en verre moulé sont eux fabriqués par extrusion de verre en fusion dans un moule. Ils sont plus épais, durables et moins coûteux. Ils ne nécessitent pas la maîtrise d'étape à risque à haute température mais, en revanche, ils sont moins esthétiques.

Le verre est caractérisé par sa faible résistance mécanique avec un risque de bris non négligeable pouvant avoir des conséquences économiques et environnementales. Plus grave, lors de chocs, la fragilité du verre peut entraîner des microfissures invisibles à l'œil nu qui peuvent malgré tout être responsables d'une contamination microbiologique. Ainsi en 2008, des incidents mortels ont été recensés dans un service de néonatalogie après administration de poches de nutrition parentérale. Après enquête, il a été démontré qu'il ne s'agissait pas d'un problème dans l'asepsie de la préparation mais d'une contamination des flacons d'acides aminés lié à des microfissures sans fuites de liquide (38).

3.1.1.1. Sorption et perméation



Le verre est souvent défini comme un matériau inerte. Cela est surtout vrai pour la problématique de sorption. Ainsi dans la base de données STABILIS (39) référencant les études de stabilité de plus de 704 molécules médicamenteuses et de plus d'un millier d'études de stabilité, seulement 5 études mettent en évidence un risque de sorption sur le verre et concernent 3 protéines (insuline, héparine et urokinase) et un immunosuppresseur le tacrolimus.

En dehors des données Stabilis, la littérature internationale confirme la bonne inertie du verre face aux risques de sorption et de perméation (40).

3.1.1.2. Migration et perméabilité



Le verre est un matériau reconnu pour ses excellentes propriétés de barrière, il est imperméable à l'air et à la vapeur d'eau. En revanche, le verre lui-même peut être vecteur de produits venant contaminer la préparation parentérale.

Ainsi, lors du processus de fabrication, le verre est fortement chauffé entraînant une augmentation de la quantité d'ions métalliques (sodique et potassique) à la surface, devenant ainsi des potentiels migrants. Tous les types de verre ont la possibilité de relarguer ces éléments alcalins dans la solution. Ce phénomène de migration est qualifié de diffusion contrôlée par échange d'ions (en anglais « diffusion controlled ion-exchange ») et conduit à un échange d'hydrogène avec les ions basiques du verre et donc, à une augmentation du pH. Le verre n'est pas fragilisé par cet échange.

De plus, lors du conditionnement de solution très basique ($\text{pH} > 8$) ou de solutions tampons spécifiques (tampons citrate, tartrate et phosphate) la structure du verre est attaquée, et des particules de verre peuvent se former dans la solution, il s'agit du phénomène de délamination (exemple en figure 4). La délamination du verre est un problème réel dans le conditionnement primaire des préparations et son évaluation fait l'objet d'obligations réglementaires (USP 1660 (41)) et a été responsable de nombreux rappels de lots par la FDA sur le marché américain, même si aucun évènement indésirable grave n'a actuellement été décrit dans la littérature comme étant une conséquence directe de la présence de particules de verre dans les flacons. Le risque potentiel est réel, il comprend essentiellement les embolies et les thromboses lors de l'administration par voie intraveineuse mais aussi la formation de granulomes et de réactions inflammatoires au site d'injection tout en augmentant le risque de réaction immunitaire (42). La résistance à la délamination du verre est dépendante du fabricant, de la méthode de stérilisation et de la nature des groupements chimiques présents dans la solution médicamenteuse (43,44).



Figure 4 : Exemple d'un flacon en verre contenant une solution basique et sujet au phénomène de délamination

Dans les flacons en verre à usage pharmaceutiques de type I, la délamination se produit surtout au niveau de la base et des « épaules » du flacon, en effet, durant le processus de fabrication la température est plus élevée à ces niveaux entraînant une vaporisation des éléments basiques et boriques et donc une couche de verre enrichie en silice (45).

Plus récemment, Jiang *et al.* (46) ont démontré que le stress mécanique existant lors de la congélation des flacons en verre pouvait aussi être responsable de l'apparition de particules, donnant ainsi une autre explication au phénomène dans le cas de flacons congelés ou ayant subi une lyophilisation du contenu.

3.1.2. Polymères et copolymères d'oléfines cycliques

Il y a un nombre important de polymères utilisés pour le conditionnement de préparations parentérales. Un polymère est une molécule organique issue de la répétition d'un motif plus petit appelé monomère. Les polymères plastiques utilisés dans le domaine pharmaceutique sont essentiellement produits par réaction de polyaddition dans laquelle la double liaison du monomère s'ouvre et offre des valences libres permettant la liaison avec le monomère suivant.

Pour un polymère donné, la chimie, le processus de polymérisation, la composition conduisent à un grand nombre de molécules pouvant migrer dans le médicament. Les polymères plastiques sont ainsi connus pour contenir de nombreux additifs pouvant

modifier considérablement leurs propriétés physico-chimiques (exemple des plastifiants dans le PVC). Les additifs autorisés dans la fabrication des récipients en plastiques sont listés dans la monographie « 3.1.13. Additifs pour plastiques (47) » de la Pharmacopée Européenne.

La plupart des plastiques utilisés dans le domaine pharmaceutique sont définis comme « thermoplastiques », ils peuvent donc de manière réversible passer d'un état liquide à un état solide en fonction de la température. Les plastiques utilisés sont nombreux et fabricants dépendants.

Dans le conditionnement de préparations parentérales, on retrouve essentiellement les plastiques suivants :

- Les polyoléfines regroupant essentiellement le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP) et l'éthylène acétate de vinyle (EVA)
- Le polychlorure de vinyle (PVC)
- Les polymères et copolymères cycliques d'oléfines (COP et COC)

Néanmoins, dans le cas spécifique de la fabrication de flacons pour préparations parentérales, la nécessité de maintenir une transparence très proche de ce que peut offrir le verre afin de permettre le contrôle de la limpidité de la préparation injectable (48) (dans le cas d'une solution) limite considérablement le type de plastiques utilisables pour la fabrication de ceux-ci. On retrouve essentiellement les polymères et copolymères d'oléfines cycliques (« cyclic olefin polymer » COP et « cyclic olefin copolymer » COC).

Il existe 2 fabricants de polymère d'oléfine cyclique en tant que matière première. Pour ces 2 compagnies, la structure finale du polymère est quasi identique, même si les processus de synthèse sont différents (49). On parlera ainsi de COP pour la société ZEON Corporation (Tokyo, Japon) et de COC pour la société TOPAS (Francfort, Allemagne).

L'obtention du COP repose sur une réaction de polymérisation par ouverture de cycle (ROMP, de l'anglais « Ring-Opening Metathesis Polymerization»). Il s'agit d'une

polymérisation en chaîne en utilisant des cycloalcènes dérivés du norbornène comme monomère pour donner des polyalcadiènes (figure 5 pour la molécule de norbornène et figure 6 pour la réaction de polymérisation du COP).

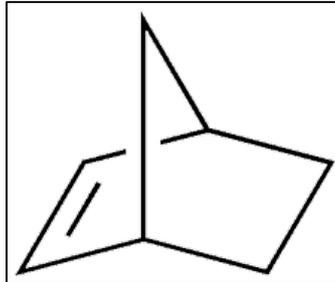


Figure 5 : Représentation d'une molécule de norbornène

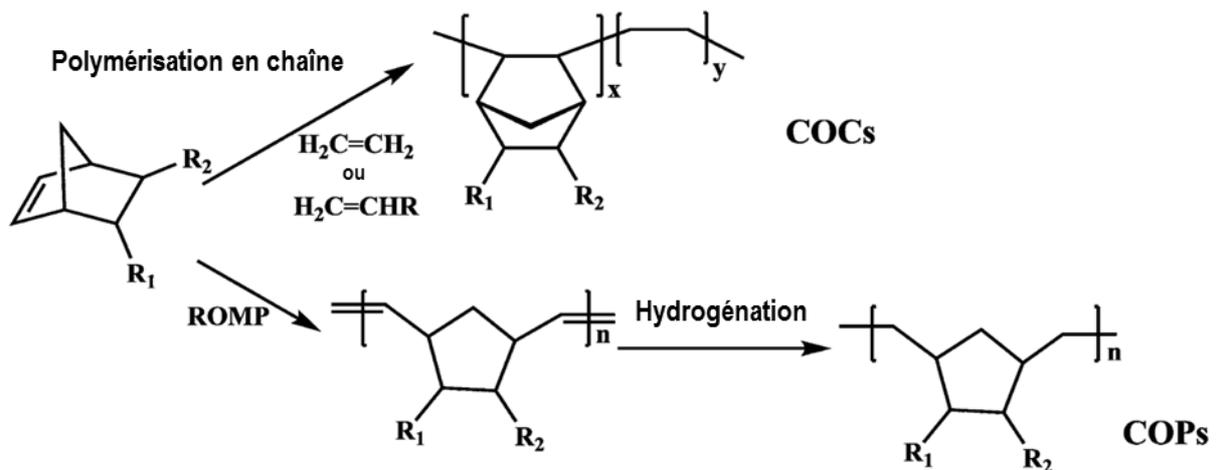


Figure 6 : Polymérisation en chaîne du COC et polymérisation par ouverture de cycle du COP à partir de la molécule de norbornène (R_1 et $R_2 = H$) traduit de Cui *et al.* (49)

Partant aussi du norbornène, le COC est issu d'une réaction de polymérisation en chaîne (figure 6). Les COC nécessitent en général peu d'additifs (pigments, lubrifiants, antioxydants).

Enfin, le COC est l'un des plastiques absorbant le moins dans l'ultraviolet (50) avec des possibilités d'analyses au travers du contenant à partir d'une longueur d'onde de 225 nm (figure 7).

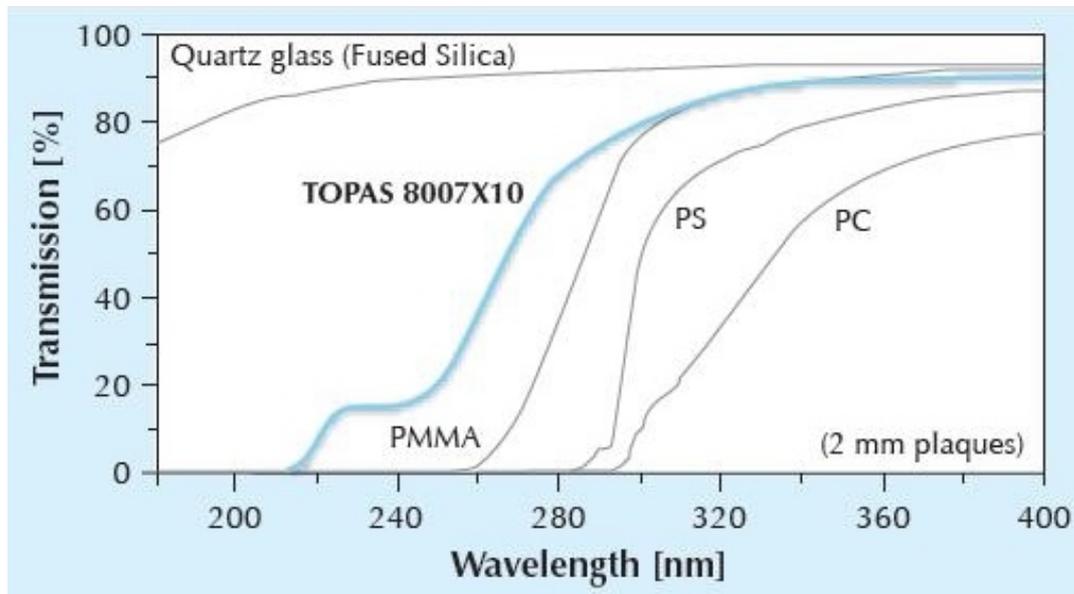


Figure 7 : Spectre d'absorption UV de différents polymères plastiques (COC Topas, Poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA), Polystyrène (PS) et Polycarbonate (PC)) par rapport au Quartz, d'après la documentation Topas (50).

Le COC Topas® répond aux exigences de plusieurs monographies des différentes pharmacopées :

- Plastic containers for pharmaceutical product (Pharmacopée Japonaise JP)
- Biological reactivity tests in-vivo (Pharmacopée Américaine USP<88>), in-vitro (USP<87>)
- Pyrogen test with rabbits (USP<151>)
- Polyoléfines (Pharmacopée Européenne 3.1.3)
- Polyéthylènes avec additifs pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques (Pharmacopée Européenne 3.1.5)



3.1.2.1. Sorption et Perméation

Les données disponibles fournies par les 2 fabricants de matière première et de dispositifs médicaux en COC et COP sont en faveur d'un très faible risque de phénomène de sorption ou de perméation lié à l'utilisation de ces polymères (51,52).

Néanmoins, il n'y a actuellement pas d'étude de stabilité portant sur le conditionnement de préparations parentérales utilisant ces matériaux.



3.1.2.2. Migration et Perméabilité

Le COP est un polymère présentant une bonne barrière aux gaz, d'après les données fournies par le fabricant. En comparaison avec les éléments de littérature, il est au moins 3 fois plus imperméable à l'oxygène, à l'azote et au dioxyde de carbone que le polypropylène (51).

Il en est de même pour le COC qui est décrit comme au moins 6 fois moins perméable à l'oxygène que le polyéthylène (PE) haute et basse densité (respectivement HDPE et LDPE), l'éthylène-acétate de vinyle (EVA), le polypropylène (PP), le polychlorure de vinyle plastifié (PVC plastifié). Il présente aussi une excellente propriété de barrière à l'humidité (meilleur que le PE, le PP, l'EVA et le PVC plastifié par ordre décroissant).

La figure 8 résume les propriétés de barrière du COC par rapport aux autres plastiques fréquemment utilisés dans le conditionnement primaire de préparations parentérales, d'après la documentation Topas (53).

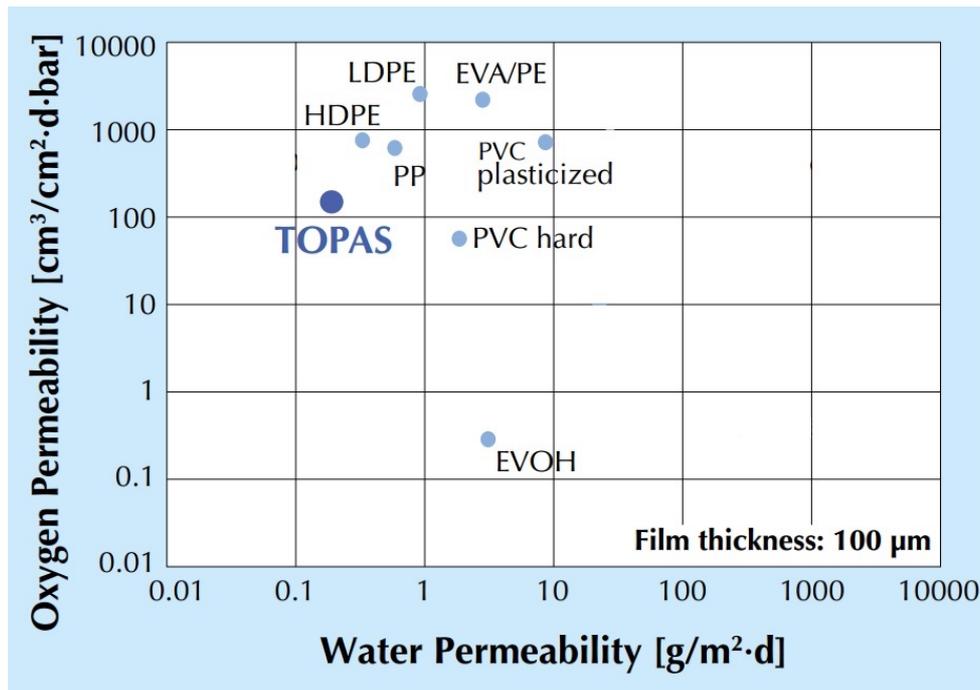


Figure 8 : Perméabilité à l'oxygène et à l'air du COC Topas® par rapport à d'autres plastiques pour un film de 100 µm d'épaisseur (EVA/PE = Multicouche Ethylene-vinyl acetate / Polyéthylène, PVC hard = PVC non plastifié, EVOH = Ethylene vinyl alcohol copolymer), documentation Topas (53)

Ainsi, le risque d'observer des produits provenant du conditionnement dans la préparation parentérale est faible lors de l'utilisation de COC. En 2014, Jenke, Castner, Egert *et al.* ont caractérisé les extractibles provenant de granules de COC (54). Lors des études d'extractibles en milieu aqueux, aucun élément n'est observable à des niveaux mesurables et ce, quelle que soit la polarité des molécules recherchées. L'utilisation d'un mélange de solvants organiques et aqueux montre l'apparition de très faibles quantités d'acides gras et d'organosiloxane. Finalement, seuls les essais d'extraction réalisés en conditions extrêmes (solvant organique uniquement) montrent la migration d'isomères du décahydronaphtalène, de phtalates, d'oléamides et des antioxydants présents initialement dans le matériau comme l'Irganox 1010 qui est un antioxydant phénolique (figure 9) fréquemment retrouvé dans les plastiques oléfiniques (COC, PE et PP).

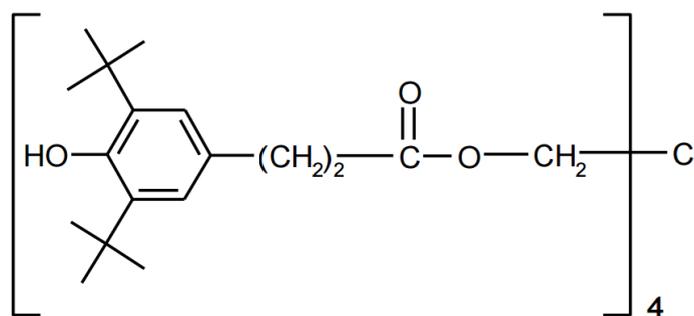


Figure 9 : Structure moléculaire de l'Irganox 1010

Ces essais démontrent ainsi que le potentiel de migration est fonction de 2 paramètres essentiels, à savoir évidemment la polarité du solvant mais aussi la lipophilie des éléments extraits qui peut être reflétée par le coefficient de partage octanol / eau, appelé Log P.

En 2007, Saunier *et al.* confirment la nécessité de conditions drastiques de température ($> 60^{\circ}\text{C}$) et de solvant (Méthanol, Ethanol, Propanol, Octanol et Décanol) pour observer la migration des antioxydants [Irganox 1010 et HydroxyToluène Butylé (BHT), figure 10] (55). Ils mettent donc en garde quant à l'utilisation du COC pour le conditionnement de préparations parentérales présentant une formulation lipophile.

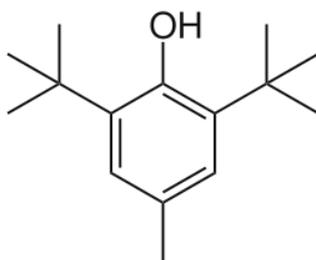


Figure 10 : Structure moléculaire de l'HydroxyToluène Butylé (BHT)

Une autre étude réalisée en 2014, par Bittner *et al.* (56) a démontré que contrairement à d'autres résines plastiques (notamment le polycarbonate), le COC et le COP ne présentent pas d'activité oestrogénique.

Finalement, au vu de la littérature existante sur le sujet, le risque lié à d'éventuels migrants provenant du COC est faible. D'ailleurs, la maîtrise du pH pour les solutions non tamponnées est plus facile dans les flacons en COC que lors du conditionnement

en flacons en verre ou les phénomènes de migration d'éléments basiques sont largement démontrés (57). Il faudra néanmoins être vigilant lors d'utilisations spécifiques tels que le conditionnement de protéines ou l'utilisation de solvants organiques ou de produits lipophiles.

3.1.3. Bouchons élastomériques

L'utilisation des composés élastomériques dans le domaine médical est presque aussi vieille que l'industrie des caoutchoucs et la découverte de la vulcanisation elle-même.

En effet, les propriétés uniques d'élasticité, de souplesse, de pénétrabilité, de barrière aux gaz et aux vapeurs ont largement répandu leur utilisation dans les dispositifs de conditionnement (bouchons des flacons) et d'administration (joints, bouchons de seringues).

Pour la fabrication des composés élastomériques, plusieurs constituants sont nécessaires :

- Un élastomère
- Un agent de réticulation (aussi appelé agent de vulcanisation)
- Un activateur

La vulcanisation est une réaction chimique se produisant généralement à température élevée (140–200 °C). Elle crée un réseau tridimensionnel grâce à la formation de liaisons chimiques (ponts) entre les chaînes macromoléculaires d'élastomères (figure 11). Cette opération est irréversible et améliore l'élasticité et la tenue thermique (supprime la thermoplasticité).

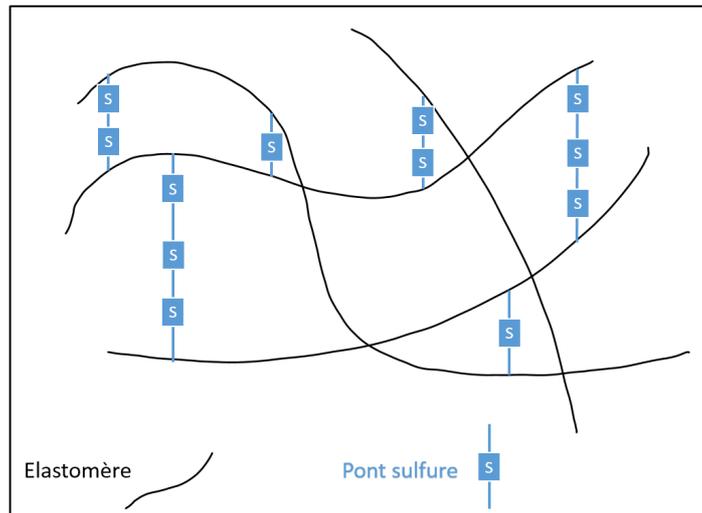


Figure 11 : Schématisation d'un composé élastomérique obtenu après l'étape de vulcanisation

Il n'y pas une seule formulation possible et les choix des constituants et des proportions se fera essentiellement en fonction des caractéristiques physicochimiques recherchées et de l'utilisation finale.

Malgré cela, la plupart des caractéristiques sont dépendantes du choix initial de l'élastomère. Parmi les élastomères synthétiques (alternatives au latex naturel provenant de l'hévéa) on retrouve les dérivés du styrène-butadiène (styrene-butadiene rubber (SBR)), le néoprène (poly-(2-chloro-1,3-butadiene), les caoutchoucs de nitriles et butyles qui sont les plus utilisés dans le domaine pharmaceutique grâce à leur très bonne barrière à l'humidité.

Les composés élastomériques utilisés dans le domaine pharmaceutique doivent répondre aux exigences des monographies des différentes pharmacopées :

- Biological reactivity tests in-vivo (USP<88>), in-vitro (USP<87>)
- Elastomeric closures for injection (USP<381>)
- Fermetures en caoutchouc pour récipients destinés aux préparations parentérales aqueuses, aux poudres et aux poudres cryodesséchées (Pharmacopée Européenne 3.2.9)

Comme cela a été précisé dans les généralités sur les interactions contenu-contenant, il ne suffit pas de satisfaire à ces monographies pour que ces composés soient utilisés

en toute sécurité. Ainsi la littérature est riche sur les risques d'interactions lors du contact avec ces composés élastomériques.

3.1.3.1. Sorption et Perméation



Dès les années 1950 et plus récemment en 2010, la problématique de l'absorption puis de la perméation des conservateurs (phénol, métacrésol, chlorocrésol, thiomersalate et 8-quinolinol sulfate) a été mise en évidence (58–61).

En 1955, Wing *et al.* essaient de déterminer les conditions favorisant la sorption du phénol par les gommés élastomériques (62).

Ils concluent :

- L'absorption du phénol par l'élastomère est liée à un état d'équilibre entre le caoutchouc et la solution aqueuse
- La quantité de phénol absorbée est directement liée à la concentration en phénol dans la solution
- Le taux d'absorption augmente avec la température
- La quantité absorbée est fonction du type de composé élastomérique

En première intention, pour limiter le phénomène de sorption, le choix du caoutchouc peut reposer sur l'étude du coefficient de partage entre la phase aqueuse et la gomme. Ainsi, si la valeur du calcul de ce coefficient de partage (= Concentration en phénol dans le composé élastomérique / Concentration en phénol dans la solution) est importante, le risque de sorption est important.

Concernant cette problématique de sorption, les protéines sont aussi décrites comme pouvant se fixer sur la zone de contact avec l'élastomère de même que les molécules lipophiles possédant un coefficient de partage octanol/eau élevé (60).

3.1.3.2. Migration et Perméabilité



Il est difficile de donner une composition fixe d'un composé élastomérique tant les produits et additifs utilisés (agents de vulcanisation, activateurs, éléments de charge, colorants et conservateurs) et les proportions peuvent être variables en fonction des caractéristiques physico-chimiques désirées.

Dans tous les cas, ces additifs, ainsi que leurs impuretés et les produits de dégradations (liés aux processus de synthèse à haute température et haute pression) sont des extractibles potentiels.

En 2013, Jenke *et al.* (54) confirment le risque de migration des produits élastomériques en réalisant des études d'extraction sur des bouchons en caoutchouc halobutyle. Ils démontrent la présence de nombreuses molécules hydrocarbonées provenant des huiles de paraffine et des additifs polyéthyléniques ainsi que des dérivés bromés qui sont des sous-produits de la réaction de polymérisation. On retrouve aussi des acides gras ainsi que de la morpholine (4,4' - dithiodimorpholine) qui est un accélérateur de la réaction de vulcanisation ainsi que des produits de dégradation. Finalement, on peut noter la présence des antioxydants couramment utilisés dans la synthèse des composés élastomériques, le BHT et l'Irganox 1010.

Cependant, en dehors de certains acides gras observables lors des extractions en milieu aqueux et à pH basique, tous les produits migrants nécessitent l'utilisation de solvants organiques pour être observables et quantifiables.

On retrouve aussi des risques de relargage d'acide chlorhydrique (utilisé dans la synthèse de l'élastomère) dans la solution qui, en cas d'acidification trop importante, peut provoquer l'attaque de l'élastomère et par conséquent l'existence de particules dans la solution (58).

L'élastomère peut aussi être source de formaldéhyde (via les agents de renforcement) et provoquer des produits de dégradation dérivés de cette molécule (adduits

formaldéhyde), mais aussi d'aluminium provenant des processus de stérilisation à la vapeur humide (121°C, 30 minutes) (63).

Les bouchons siliconés sont aussi responsables d'une contamination particulière, celle-ci est essentiellement fonction du pH (la solution basique à pH 8 est responsable d'une contamination plus importante que la solution acide à pH = 4) (64).

On peut finalement signaler le risque de contamination de la solution médicamenteuse par des particules de l'élastomère lors du prélèvement à l'aiguille (phénomène de carottage) pouvant être responsable de réaction allergique pour les personnes concernées ou d'un phénomène de sensibilisation (65).

La migration de ces produits doit donc être sous le contrôle de l'industrie pharmaceutique ou du pharmacien décidant d'utiliser un dispositif élastomérique car les risques liés aux extractibles provenant de celui-ci sont réels et non négligeables.

En 2007, Zhao *et al.* ont montré que la migration des composés volatils provenant du bouchon en composé élastomérique peut être une source de modification de la limpidité des produits destinés à la voie injectable contenus dans les flacons. Ils ont pris l'exemple du BHT, un antioxydant présent dans différentes formulations de bouchons, qui peut se volatiliser dans l'espace de tête du flacon (dosage par GC/MS) et ainsi affecter la limpidité de la ceftriaxone sodique (66).

En 2015, Kozlovskaya *et al.* (67,68) ont réalisé des études de cytotoxicité des relargables provenant des différentes parties de différents sets de perfusion par gravité. Ils concluent à une plus importante toxicité des relargables provenant du site d'injection en composé élastomérique que du reste du dispositif (tubulure et chambre compte-gouttes). Les matériaux utilisés ne sont cependant pas décrits.

Mais le cas le plus médiatisé est certainement celui concernant l'EPREX (époétine alfa) en seringue pré-remplie (69). Peu après la mise sur le marché d'une nouvelle formulation (utilisation du polysorbate 80 remplaçant l'albumine humaine en tant que stabilisant), l'incidence des érythroblastopénies anticorps dépendante (antibody-mediated pure red cell aplasia (PRCA)) a augmenté chez les patients en insuffisance

rénale chronique. Ces érythroblastopénies étaient liées à l'apparition d'anticorps neutralisant l'érythropoïétine recombinante (EPREX) et endogène. Par la suite, il a été démontré que le polysorbate 80 permettait l'extraction de faible niveau d'agents de vulcanisation provenant des composés élastomériques qualifiés de « uncoated », c'est-à-dire sans traitement de surface. L'utilisation d'un traitement de surface à base de fluoropolymère a permis de résoudre le problème et de retourner à une incidence des érythroblastopénies normale. Les traitements de surface les plus connus sont les traitements type Fluorite[®] (Daikyo) ou Teflon[®] qui permettent d'améliorer les capacités de barrière et de réduire les risques de migrations des composés du bouchon.

Déjà en 1981, Petersen *et al.* mettaient en avant l'existence de produits à risques relargués par les élastomères en prenant pour exemple 3 seringues provenant de fabricants différents (70). Dans 2 des 3 seringues, après un processus d'extraction adapté, du 2-(2-hydroxyethylmercapto)benzothiazole était quantifié. Ce produit est issu de la réaction entre le 2-mercaptobenzothiazole (agent de vulcanisation) provenant de la gomme et l'oxyde d'éthylène servant à la stérilisation. Bien que peu de données existent sur la toxicité du 2-(2-hydroxyethylmercapto)benzothiazole, le précurseur est connu comme étant responsable des allergies aux composés élastomériques présents dans les vêtements et les chaussures, il est mutagène et embryotoxique chez les mouches et les souris respectivement. Au vu de la structure, la sécurité est de mise surtout dans le cadre d'une injection parentérale.

3.2. Ampoules

Pendant des décennies, l'ampoule a été le conditionnement de référence pour les préparations injectables de petit volume car l'utilisation exclusive du verre garantissait une certaine inertie chimique, excluant les risques d'interactions liés à l'utilisation des polymères plastiques et des élastomères.

Cependant, la difficulté d'assurer l'intégrité lors du scellage à la flamme et le risque de la présence de particules lors de l'ouverture limitent leur utilisation. Il existe en effet toujours des particules venant contaminer le médicament et obligeant (normalement) à l'utilisation de filtre. Ainsi en 2016, Joo *et al.* ont évalué différentes techniques lors du prélèvement de solution conditionnée en ampoule. Sur des ampoules d'un volume

de 2 mL, 108 particules de verre en moyenne sont prélevées. La longueur moyenne de ces particules était de 21,38 μm avec une forte disparité de taille (de 1,92 à 504,67 μm) (71).

Outre ces problèmes liés aux particules, les risques encourus par l'utilisation des ampoules sont ceux précédemment détaillés avec le verre des flacons. Il s'agit essentiellement des problèmes de migration d'éléments basiques pouvant impacter le pH de la solution et donc indirectement les stabilités des molécules présentes dans la préparation parentérale et les risques de délamination du verre.

On retrouvera en revanche l'excellente barrière aux gaz et à l'humidité ainsi que le faible risque de sorption.

3.3. Seringues

Les seringues sont des dispositifs médicaux largement utilisés en milieu hospitalier. Elles sont essentiellement utilisées vides et stériles en tant que dispositif d'administration et de prélèvement des solutions injectables. Elles sont aussi utilisées comme conditionnement de forme unitaire prête à l'emploi lors de préparations hospitalières. Dans le cadre d'une production hospitalière, les seringues utilisées sont généralement en polypropylène (corps et piston) et un joint est parfois présent, celui-ci est généralement en composé élastomérique (souvent de l'isoprène synthétique sans latex). Le corps de la seringue peut parfois être en verre ou fabriqué dans un autre polymère plastique (copolymère d'oléfines cycliques, polyéthylène).

Pour assurer un mouvement fluide lors du prélèvement et l'administration, de l'huile de silicone est souvent utilisée pour lubrifier le piston.

Le choix de l'utilisation de la seringue doit se faire en tenant compte du risque d'interaction contenu-contenant avec les plastiques du corps, des matériaux du piston de la seringue ainsi que du bouchon utilisé (souvent en polyéthylène PE) nécessaire à la fermeture de la seringue après remplissage.

3.3.1. Polypropylène

Le polypropylène (PP) est un thermoplastique semi-cristallin de la famille des polyoléfinés obtenu par polymérisation du propylène (figure 12).

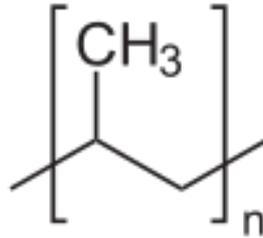


Figure 12 : Structure moléculaire du polypropylène

C'est le plus rigide des polymères polyoléfiniques et le maintien de cette rigidité à plus de 100°C permet la stérilisation à la vapeur. Il présente aussi d'excellentes propriétés de résistance à la flexion répétée.

Le polypropylène est un plastique d'une très grande stabilité chimique et à faible risque d'interaction contenu-contenant, que ce soit pour les phénomènes de sorption, de perméation ou de relargage.

Dans le cadre du conditionnement de préparations destinées à la voie parentérale, le polypropylène doit répondre aux exigences des monographies de la Pharmacopée Européenne :

- Polyoléfinés (Pharmacopée Européenne 3.1.3)
- Polypropylène pour récipients et fermetures destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques (Pharmacopée Européenne 3.1.6)

3.3.1.1. Sorption et perméation



Le risque de phénomènes de sorption sur un conditionnement en polypropylène est faible. De nombreuses études évaluant le conditionnement de molécules

médicamenteuses dans des dispositifs de conditionnement en polypropylène confirment cette bonne inertie (72–76). On retrouve ainsi dans la littérature seulement 2 cas démontrés de phénomènes de sorption de produits pharmaceutiques sur un dispositif de conditionnement ou d'administration en polypropylène.

De Muynck *et al.* démontrent en 1988 la perte de 12% de dinitrate d'isosorbide dosé à 100 µg/mL par un phénomène de sorption, après 5 heures de stockage dans une seringue en polypropylène (77).

En 2013, McCluskey *et al.* tirent la même conclusion dans le cadre du conditionnement de nitroglycérine (trinitrine à 110 µg/mL) avec une perte de 8% en 14 jours et de 19% en 90 jours (78). La méthode utilisée était indicatrice de stabilité et aucun produit de dégradation n'a été mis en évidence, appuyant ainsi la thèse d'un phénomène de sorption. Néanmoins, les auteurs ajoutent que la nitroglycérine est un composé volatil et qu'une partie de la perte peut être liée à ce phénomène.

3.3.1.2. Migration et perméabilité



Le polypropylène n'est pas attaqué ni par les acides, ni par les bases, ni par les solutions salines. Il est en revanche sensible à la dégradation par les rayons ultraviolets et nécessitera l'ajout d'additifs pour être stabilisé. De même, on retrouve fréquemment des antioxydants (Irganox), des additifs antistatiques et des colorants. Bien que de nombreuses méthodes analytiques soient clairement définies pour l'identification et la quantification de ces produits (notamment dans le secteur de l'agro-alimentaire) (79), il n'existe pas de publication mettant en valeur les risques liés à d'éventuels produits relargués lors du conditionnement de solutions médicamenteuses.

L'analyse des relargables nécessite des moyens analytiques importants et une réelle expertise dans le domaine. Les études de stabilité existantes portant sur des productions en CIVAS font rarement état du risque de relargables en dehors des analyses indirectes telles que la limpidité, le pH ou l'osmolarité.

Finalement, une des limites à l'utilisation du polypropylène pour le conditionnement à long terme est le faible potentiel de barrière aux gaz et à l'humidité comparé au verre ou aux polymères d'oléfines cycliques. Le polypropylène est en effet moins imperméable à l'humidité que le COC, même s'il est meilleur que l'EVA et le PVC plastifié. Il est surtout nettement moins imperméable à l'oxygène (figure 8).

3.3.2. Huile de silicone

L'huile de silicone est utilisée pour la lubrification du joint du piston. Elle doit être conforme aux spécifications de la monographie 3.1.8 de la Pharmacopée Européenne « Huile de silicone utilisée comme lubrifiant » (80). En effet, l'administration par seringue nécessite une force extérieure pour initier et maintenir le mouvement du piston tout au long du corps de la seringue. L'huile de silicone est utilisée pour réduire les forces nécessaires. Néanmoins, son excès peut conduire à l'apparition de gouttelettes visibles dans la solution médicamenteuse ainsi qu'à l'augmentation du risque d'agrégation des protéines avec ces gouttelettes hydrophobes.

Ainsi en 2011, Liu et *al.* évaluent le risque d'agrégation et donc d'apparition de particules liées à la présence d'huile de silicone lors du reconditionnement de solutions de bévacizumab et de ranibizumab dans des seringues en PP (81). En réalisant des analyses dynamiques d'images (MicroFlow Imaging) ainsi que de la chromatographie d'exclusion stérique, ils ont démontré que le nombre de particules est toujours supérieur lors du conditionnement en seringue par rapport à un conditionnement en flacon pour une même solution. Cela n'a, en revanche, pas de conséquence pour satisfaire les critères de la monographie 2.9.19. de la Pharmacopée Européenne (4) car les particules mesurées sont de taille inférieure à 10µm.

L'huile de silicone peut aussi migrer dans la solution médicamenteuse. Ainsi, Shah et *al.* ont déterminé les paramètres augmentant le risque de migration (82). Selon eux, le pH joue un rôle majeur en augmentant la quantité d'huile de silicone retrouvée dans la préparation parentérale lors de conditionnement de solutions fortement acides ou basiques. Le deuxième élément clé est la réticulation du silicone au contact du matériau de la seringue. Plus le degré de réticulation du silicone est élevé, moins la migration est importante.

3.4. Poches

Les poches pour usage pharmaceutique sont particulièrement adaptées au conditionnement de gros volumes (à partir de 250mL) bien que les tailles disponibles permettent un très large choix.

Le choix de la poche pour le conditionnement de volume important à perfuser s'impose souvent car il s'agit d'un conditionnement prêt à l'emploi qui ne nécessite pas de prise d'air (contrairement à un flacon en verre), la poche se collabe en effet sur elle-même au fur et à mesure de l'administration.

Dans le cadre d'une utilisation dans un service de préparation, le pharmacien aura le choix quant à l'utilisation de poches déjà remplies du solvant de dilution ou de poches vides. De la même manière, selon les besoins, le pharmacien aura le choix du type d'accès (Luer Lock, septum élastomérique).

Les matériaux utilisés sont variables et dépendants du fournisseur, on retrouve essentiellement les poches en PVC, en PP, en PE (basse densité LDPE et haute densité HDPE) et en EVA.

Le recours à la fabrication de type « multicouches » est fréquent afin de cumuler les avantages de plusieurs matériaux.

Les risques d'interactions existeront essentiellement avec le matériau en contact direct avec la préparation médicamenteuse.

Le terme générique « polyoléfine » est aussi employé pour désigner les poches fabriquées en un mélange de PE, PP et EVA (qui est un copolymère oléfinique).

En fonction des matériaux utilisés, des problématiques de sorption, de migration, de perméation et de perméabilité sont néanmoins décrits.

Le tableau 3 regroupe de manière synthétique les propriétés des différents polymères utilisés pour la fabrication des poches.

Tableau 3 : Comparaison des propriétés physiques des polymères utilisables pour la fabrication de poches
traduit de Sacha *et al.* (60)

Propriété	PVC Polychlorure de vinyle	LDPE Polyéthylène Basse Densité	HDPE Polyéthylène Haute Densité	PP Polypropylène	EVA Ethylène acétate de vinyle
Compatibilité avec la solution médicamenteuse conditionnée	Faible	Bonne	Bonne	Bonne	Passable
Perméation à l'humidité	Très faible	Bonne	Excellente	Bonne	Très faible
Stérilisation à la chaleur	Passable	Faible	Bonne	Excellente	Très faible
Caractéristiques de transparence	Bonne	Passable	Faible	Passable	Passable
Capacité à se collaber	Excellente	Faible	Faible	Faible	Bonne

Le PVC a été le premier polymère utilisé dans la fabrication des poches à usage médical.

3.4.1. Polychlorure de vinyle

De par ses bonnes capacités à se collaber et sa transparence satisfaisante, le PVC plastifié a été le premier polymère utilisé pour la fabrication de poches. C'est un polymère obtenu par polyaddition de monomères de chlorure de vinyle (figure 13). Il est largement utilisé dans le domaine pharmaceutique du fait de ses bonnes propriétés mécaniques, sa compatibilité avec les procédés de stérilisation classiques. C'est un plastique peu onéreux et facilement disponible.

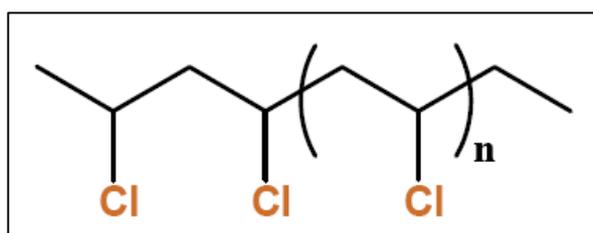


Figure 13 : Formule chimique du PVC

Après synthèse, le PVC est un plastique dur et cassant à température ambiante. Il nécessite l'addition d'un plastifiant pour le rendre souple, élastique et plus facile à manipuler. Le di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) a été historiquement le plastifiant le plus largement utilisé dans les plastiques médicaux en PVC. D'autres agents peuvent

être retrouvés tels que les huiles qui améliorent la plasticité et servent de lubrifiant, des stabilisants ainsi que des colorants.

Dans le cadre du conditionnement de préparations destinées à la voie parentérale, le PVC doit répondre aux exigences de la monographie de la Pharmacopée Européenne (les monographies détaillant le conditionnement de médicaments dérivés du sang sont volontairement exclues) :

- 3.1.14 Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour récipients destinés à contenir les solutions aqueuses pour perfusion intraveineuse (83)

3.4.1.1. Sorption et perméation



Le PVC est un plastique à risque de sorption important, la base de donnée Stabilis, après analyse de plus d'un millier d'études conclut à un rôle néfaste des matériaux de conditionnement (parmi le verre, le PP, le PE, le PVC, les Polyoléfinés non-définies et l'EVA) dans 59 cas dont 43 de types ab/adsorption, 11 de relargages, 1 précipitation ainsi que 4 phénomènes ayant conduit à une baisse de concentration non liée à des phénomènes de sorption. Le PVC est impliqué dans 79% des phénomènes d'ad/absorption, 100% des phénomènes de relargage et de baisse de concentration.

Par exemple, Salomies *et al.* ont comparé la stabilité des 3 molécules conditionnées dans un flacon en verre, dans une poche en polypropylène et dans une poche en PVC. Seule la poche en PVC présentait des pertes en principe actif (perte de 70% de diazépam dosé à 0,1 mg/mL ; perte de 75% pour la nitroglycérine dosée à 0,1 mg/mL et 49% pour la warfarine dosée 0,025 mg/mL) (84)).

Ce risque existe pour un large panel de molécules toujours caractérisées par une lipophilie importante avec des coefficients de partage octanol/eau supérieurs à 0,5 ou pour des protéines (héparine et insuline) (85–87). Une compilation des informations issues de la base de données Stabilis (39) est recensée sur la figure 14.

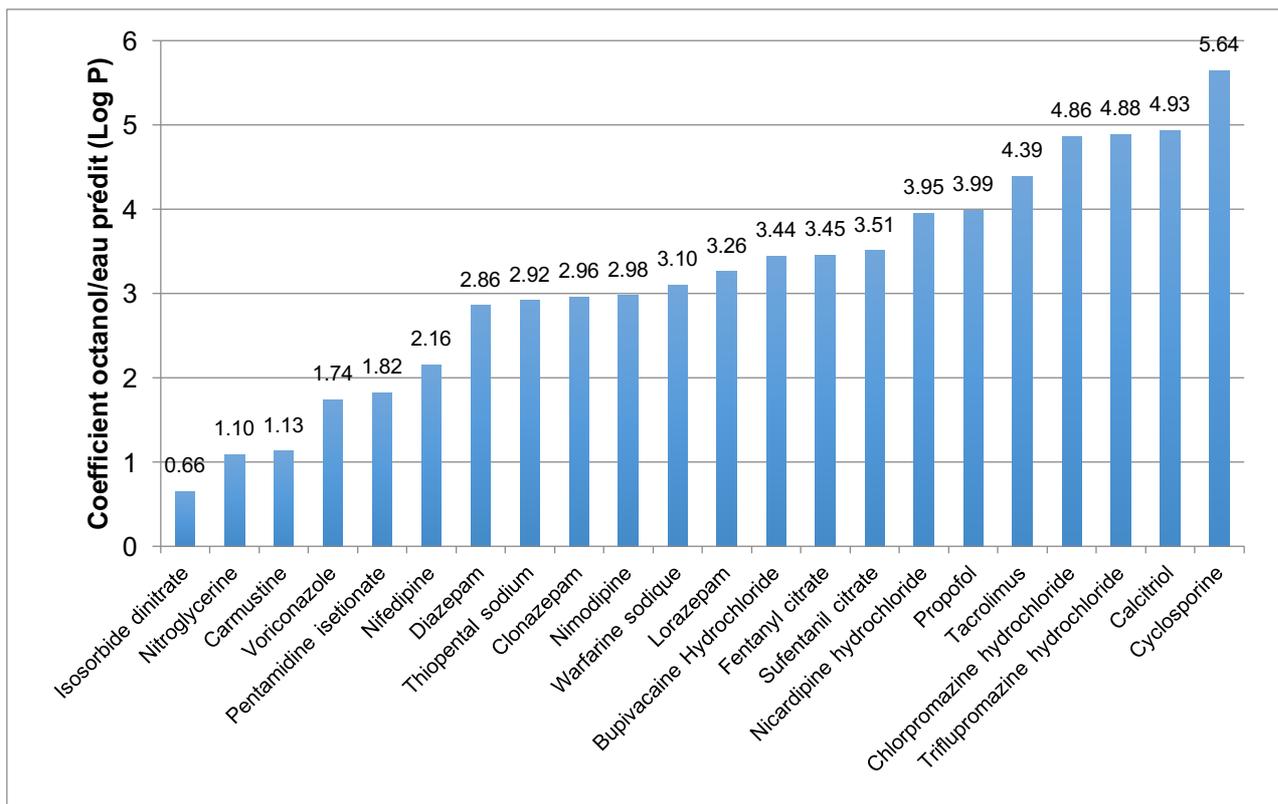


Figure 14 : Coefficients de partage octanol/eau des molécules présentant des risques d'ab/adsorption lors du stockage dans un conditionnement en PVC (synthèse des données disponibles sur la base de données Stabilis (39))

En 2009, Treleano et *al.* démontrent en utilisant la nitroglycérine et le diazépam, l'impact de la dureté du matériau (plus le PVC est dur, moins le phénomène de sorption est important) et du choix du plastifiant dans les phénomènes de sorption (exemple de la nitroglycérine en figure 15). Ces 2 facteurs impactent en effet le coefficient de diffusion ainsi que le coefficient de partage. Ils concluent leur étude en confirmant que dans le domaine du conditionnement de produits pharmaceutiques, le PVC de par sa polarité et son haut potentiel de diffusion est certainement le polymère le plus à risque de sorption (88).

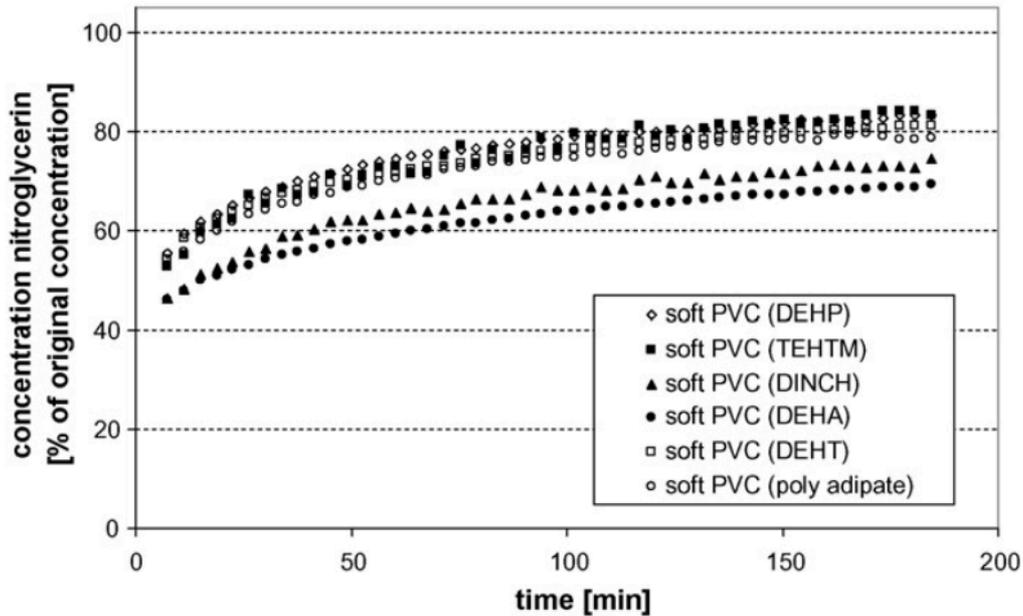


Figure 15 : Impact du plastifiant du PVC sur le phénomène de sorption d'après Treleano *et al.* (88)
 (DEHP=Di-(2-ethylhexyl) phtalate ; TEHTM=Trimethyl trimellitate ; DINCH=1,2-cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester, DEHA=Bis(2-ethylhexyl) adipate, DEHT= di-(2-ethylhexyl) terephthalate)



3.4.1.2. Migration et perméabilité

Le PVC est surtout connu pour la problématique de relargage de plastifiants de type phtalates. En effet, le PVC est un polymère rigide à température ambiante, ainsi, pour la fabrication des poches et des tubulures jusqu'à 40% (m/m) de la masse de matière plastique est en fait constituée de plastifiants permettant d'assouplir suffisamment le PVC.

Les plastifiants sont de petites molécules qui ne sont pas liées de manière covalente au PVC. Des phénomènes de migration de ces plastifiants sont décrits dans la littérature (89–93) et conduisent donc à une exposition involontaire des patients à ces molécules possédant pour certaines une toxicité démontrée (propriétés cancérigènes et reprotoxiques au moins démontrées chez l'animal). De plus, en 2007, Kim *et al.* démontrent que différents plastifiants de la famille des phtalates (Diethyl phtalate

(DEHP) et dibutyl phthalate (DBP)) ont une activité inhibitrice de certaines glycoprotéines P pouvant impacter l'absorption et l'élimination de certains médicaments et donc exposer le patient à un risque de surdosage (94).

Le relargage des plastifiants est largement favorisé par le caractère apolaire de la solution, ce qui est peu fréquent en réalité car beaucoup de préparations destinées à la voie parentérale sont formulées en milieu aqueux. Néanmoins, des précautions doivent être prises lors du conditionnement ou l'administration de nutrition entérale ou parentérale contenant des lipides et des émulsifiants. Le risque de relargage dans ce type de situation existe de manière importante (95).

En 2015, le Comité scientifique des risques sanitaires émergents et nouveaux (Scientific Committee On Emerging And Newly Identified Health Risks (SCENIHR)) a actualisé un rapport établi en 2008 sur la sécurité des dispositifs médicaux contenant du PVC plastifié au DEHP (ou d'autres plastifiants) sur les nouveau-nés et d'autres groupes possiblement à risque (96,97). Après analyse de la littérature sur le sujet, ils concluent :

L'alimentation est la principale source d'exposition au DEHP pour la population générale avec une charge corporelle estimée de 1 à 30 µg de DEHP par kg de poids corporel par jour chez l'adulte et de 6 à 17 µg par kg par jour chez l'enfant.

L'utilisation de dispositifs médicaux en PVC peut conduire à une forte exposition au DEHP (jusque 10000 µg par kg par jour chez l'adulte et 6000 µg par kg par jour chez l'enfant), notamment dans certaines situations à risques :

- Transfusion sanguine
- Oxygénation par membrane extra-corporelle
- Nutrition entérale et parentérale totale
- Hémodialyse et dialyse péritonéale

Le DEHP est excrété principalement comme glucuronides non toxiques (87,7%).

Après différentes études de toxicité chez l'animal, le DEHP est classé comme pouvant être cancérigène pour les humains (Groupe 2B) et présumé toxique pour la reproduction humaine (Catégorie 1B).

Au vu de cette toxicité, la dose maximale tolérable est de 50µg/kg/jour, ce qui est bien en dessous de l'exposition réelle des personnes dans les groupes à risques.

Chez l'animal, la reprotoxicité du DEHP est supérieure à d'autres plastifiants (di-(2-éthylhexyl)-adipate (DEHA), le tri(2-éthylhexyl) trimellitate (TOTM), diisononyléster (DINCH) et phtalate de diisononyle (DINP)).

A l'heure actuelle, les informations disponibles concernant les plastifiants alternatifs sont trop faibles. Dans ce contexte, en France en 2014, un projet national a été lancé et financé par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM). Il s'agit du projet ARMED (Assessment and Risk management of Medical Devices in plastified polyvinylchloride) visant à évaluer et contrôler le risque de migration des plastifiants alternatifs aux DEHP. Dans le cadre de ce projet, coordonné par V. Sautou, différents axes de recherche sont développés afin de maîtriser les techniques analytiques permettant de doser des plastifiants dans les dispositifs médicaux et les liquides biologiques (98–102), de développer des modèles de migration (103,104) puis de connaître le devenir des plastifiants dans l'organisme afin de déterminer les principaux métabolites et surtout d'en étudier leur toxicité. Les métabolites peuvent, en effet, être finalement plus toxiques que la molécule mère.

Cette problématique des plastifiants est d'autant plus importante que chaque molécule possède des caractéristiques propres, il n'est donc pas possible d'extrapoler les résultats du DEHP. Ainsi en 2009, Horne *et al.* démontrent que le DEHP a un potentiel de migration plus important que le tri(2-éthylhexyl) trimellitate (TOTM) et le dioctyl adipate (DOA) (105). Ces travaux ont été confirmés en 2016, par Eckert *et al.* qui ont montré un risque de migration largement supérieur lors de l'utilisation de tubulure en PVC plastifié par le DEHP que lors de l'utilisation de TOTM (106).

Les plastifiants sont bien évidemment les migrants majoritaires lors d'utilisation de PVC plastifié, mais ce ne sont pas les seuls.

En 2014, Jenke *et al.* ont caractérisé les extractibles provenant de PVC plastifié au DEHP utilisé dans la fabrication de dispositif médicaux (54). Ils démontrent la présence de métaux (Ca et Zn) liés aux sels de calcium et au stéarate de zinc utilisés comme additifs. Les concentrations maximales sont retrouvées lors d'une extraction en milieu aqueux à pH acide, le mécanisme prédominant est un phénomène d'échanges d'ions entre la solution et le conditionnement. Concernant les molécules organiques, les quantités retrouvées en milieu aqueux sont extrêmement faibles. En revanche, en milieu organique, on retrouve d'importantes quantités du plastifiant majoritaire (DEHP dans ce cas), des acides gras époxydés (impuretés ou produits de l'hydrolyse de plastifiants secondaires telle que l'huile de lin) et des amides aliphatiques provenant de l'agent glissant (érucamide). Une attention particulière doit être portée sur les produits issus de l'hydrolyse du DEHP [Mono(2-ethylhexyl)phthalate (MEHP) et 2-ethyl-1-hexanol], qui deviennent plus polaires et solubles dans l'eau et se retrouvent plus facilement dans les extraits aqueux.

3.4.2. Polyéthylène

Le polyéthylène (PE) est un polymère plastique de la famille des polyoléfines, il est issu de la polycondensation de monomères d'éthylène (figure 16).

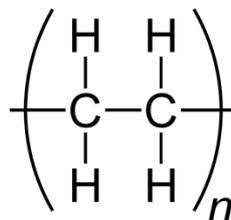


Figure 16 : Structure moléculaire du polyéthylène

Le polyéthylène est un nom générique qui fait référence à plusieurs matériaux fonctionnellement distincts mais qui partagent une composition similaire.

Dans l'industrie pharmaceutique, on retrouve essentiellement les polyéthylènes haute densité (high density PE, HDPE) utilisés pour la production de conditionnements rigides et les polyéthylènes basse densité (low density PE, LDPE) utilisés pour la production de films souples (cas des poches). Le LDPE est plus ramifié que le HDPE

(figure 17), par conséquent, les chaînes s'assemblent moins avec des forces intermoléculaires plus faibles conduisant à un plastique moins dense, plus malléable et résistant aux chocs (107). Pour son utilisation dans la fabrication de poches, le polyéthylène LDPE est souvent utilisé comme la couche principale en contact avec la préparation parentérale (idem pour l'EVA) car il présente d'excellentes propriétés de compatibilité chimique. Il est ensuite associé à une couche d'alcool d'éthylène-vinyle (Ethylene Vinyl Alcohol EVOH) qui n'est pas en contact avec la solution afin d'améliorer les capacités de barrière de la poche.

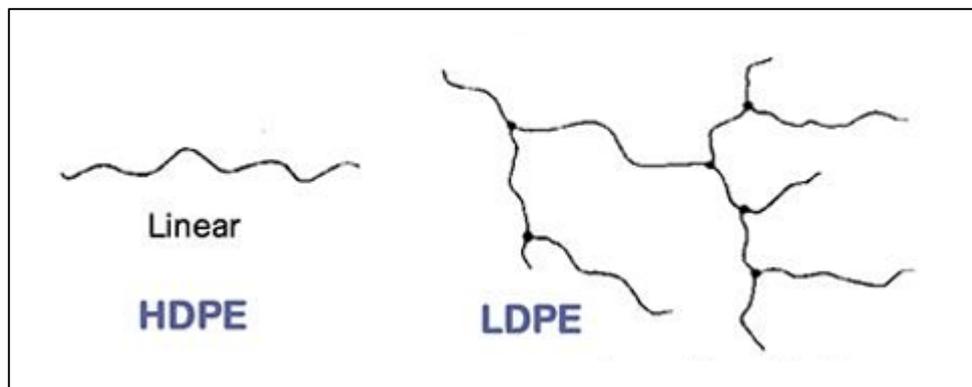


Figure 17 : Structure du HDPE et du LDPE d'après Sepe (107)

Dans le cadre du conditionnement de préparations destinées à la voie parentérale, le PE doit répondre aux exigences des monographies de la Pharmacopées Européenne :

- 3.1.3 Polyoléfines (108)
- 3.1.4 Polyéthylène sans additif pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques (109)
- 3.1.5 Polyéthylène avec additifs pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques (110)

3.4.2.1. Sorption et perméation



Le polyéthylène est un polymère peu sujet au phénomène de sorption. Une seule étude met en évidence le risque de diminution de la concentration en principe actif (insuline) et ne concerne pas un dispositif de conditionnement mais un dispositif d'administration (111).

3.4.2.2. Migration et perméabilité



Le LDPE possède de bonnes propriétés de flexibilité, de barrière aux gaz et à l'humidité, de transparence, pour un faible coût. Il est moins sensible aux rayonnements que le polypropylène mais peut tout de même nécessiter l'ajout d'additifs (stabilisants et colorants). D'autres additifs (antioxydants, lubrifiants) sont autorisés par la Pharmacopée Européenne afin d'obtenir les propriétés physico-chimiques nécessaires (110).

Le risque de relargage dans des conditions standards d'utilisation est faible. En effet, même dans des conditions d'extraction drastiques peu d'éléments sont observables et rarement en milieu aqueux (sauf quelques métaux dans des conditions de pH très acides, quantités relarguées de l'ordre du $\mu\text{g/g}$). Les autres produits sont extraits lors d'utilisation de solvants organiques et correspondent finalement aux différents additifs de synthèses utilisés (lubrifiants, antioxydants, stabilisants aux rayonnements) (54).

3.4.3. Ethylène-acétate de vinyle

L'EVA a été développé afin de faire face aux 2 principaux problèmes liés à l'utilisation du PVC, les risques de phénomènes de sorption et l'utilisation des plastifiants pouvant migrer dans la solution. Néanmoins l'EVA est tout aussi perméable à l'humidité que le PVC, on le retrouve ainsi rarement utilisé seul mais plutôt sous forme de multicouches en association avec l'EVOH qui sert de barrière à l'humidité et aux gaz.

L'EVA est un polymère de la famille des copolymères oléfiniques qui contient une répétition d'un monomère éthylène et d'un monomère acétate (figure 18).

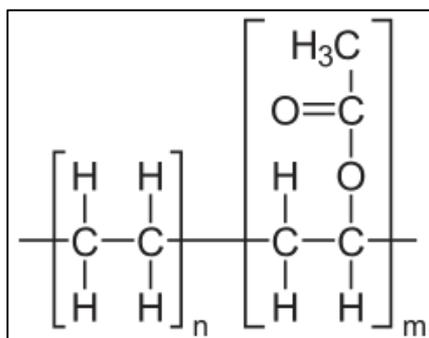


Figure 18 : Structure moléculaire de l'EVA (n et m représentent la répétition de chaque monomère)

3.4.3.1. Sorption et perméation



Le risque de sorption est globalement faible, deux études mettent en évidence un phénomène de diminution de concentration lors d'un contact avec l'EVA (dans le cadre d'une administration via une tubulure) pour l'insuline (112), le diazépam et la nitroglycérine (88). Aucune autre étude ne démontre un risque particulier notamment dans le cadre d'un conditionnement primaire.

3.4.3.2. Migration et perméabilité



Comme pour les matériaux précédents (notamment le PE et le PP), une migration de produit provenant de la couche en EVA est possible. On retrouve classiquement la migration des antioxydants comme l'Irganox 1010 (113).

3.4.4. Poches particulières

Actuellement, l'utilisation des poches sans PVC est à faible risque d'interaction contenu-contenant. Les industriels ont en effet réussi à combiner les avantages des polyoléfines (EVA, PE, PP) en termes de risques de sorption tout en associant l'utilisation d'une couche intermédiaire (EVOH) afin de rendre le produit imperméable aux gaz et à l'humidité.

Des études existent sur des formulations multicouches brevetées dont la composition précise n'est pas connue. On retrouve ainsi en 2006, puis en 2009 (114,115), l'évaluation d'une nouvelle génération de poches en polyoléfine (multicouches de PE, PP et polyamide) VisIV® (Hospira France, Meudon La Forêt, France)

La compatibilité de 7 molécules connues pour présenter des risques d'adsorption sur le PVC (amiodarone, carmustine, insuline, lorazépam, nitroglycérine, sufentanil et thiopental) et 4 autres (docétaxel, paclitaxel, tacrolimus et teniposide) ayant des excipients décrits comme facilitant la migration de différents composés de la poche (Polysorbate 80, Cremophor EL, Ethanol, Alcool benzylique et Diméthylacetamide) a été évaluée. Sur les produits testés, seule l'insuline a présenté des phénomènes d'absorption sur la poche et dans tous les cas, aucun composé présent initialement dans le plastique n'a migré.

3.5. Bilan sur les risques d'interaction contenu-contenant en fonction des matériaux utilisés

Au travers des précédents chapitres, nous avons démontré que le risque d'interaction n'est jamais nul et les conséquences peuvent être différentes en fonction du matériau utilisé.

Le verre reste un matériau de choix, car il est peu sujet aux phénomènes de sorption et imperméable à l'humidité et aux gaz. Il reste néanmoins plus cher, fragile et limité à la préparation de flacons ou d'ampoules. De plus, il est sujet aux phénomènes d'alcalinisation et de délamination.

Concernant les polymères plastiques, le PVC plastifié est clairement le plastique le plus à risque, que ce soit à cause des phénomènes de sorption mais aussi de relargage des plastifiants et autres additifs dans la solution médicamenteuse. Il devrait (sauf cas spécifique) être exclu de toute utilisation en tant que conditionnement primaire de préparations injectables.

Les autres principaux polymères utilisés dans la fabrication de dispositifs de conditionnement sont majoritairement de la famille des polyoléfines (PE, PP, et EVA)

et présentent des profils de risques faibles. Depuis les années 2000, des dispositifs à bases de résine d'oléfines cycliques (COC et COP) se développent et sont promis à un bel avenir que ce soit pour la préparation de seringues prêtes à l'emploi ou de flacons. Le COC semble en effet, sur le papier, en bonne place grâce à ses propriétés de barrière aux gaz et à l'humidité, de résistance mécanique, de transparence et d'inertie chimique. Même si tous ces polymères sont dans l'absolu à faible risque d'interactions, il ne faut pas oublier qu'un conditionnement primaire est actuellement constitué d'un ensemble de matériaux, une seringue va être associée à un joint en élastomère lubrifié par de l'huile de silicone pour le piston tandis qu'un flacon sera toujours obturé par un bouchon en composés élastomériques.

Mais finalement, une fois le dispositif choisi et les risques encourus connus, le pharmacien voulant développer des formes prêtes à l'emploi dans un contexte d'unité CIVAS reviendra à la question principale :

« Suis-je en mesure d'assurer une production de qualité pour les quantités demandées ? »

Cette capacité de production est un pré-requis fondamental à la centralisation, or certains conditionnements sont plus faciles à automatiser et à sécuriser que d'autres.

4. Systèmes de remplissage et automatisation

4.1. Systèmes de remplissage

Les systèmes les plus simples rentrant dans cette catégorie sont les pompes péristaltiques ou les pompes reposant sur l'utilisation de pousse-seringues.

Dans ce contexte, la pompe Baxa Repeater[®] est fréquemment utilisée. Il s'agit d'une pompe péristaltique avec une voie unique permettant le transfert, à partir d'un grand volume de solution, d'un volume défini vers le dispositif voulu (seringue, poche, diffuseur portable).

On retrouve dans la littérature plusieurs exemples d'utilisations de cette pompe dans un contexte de préparation à la pharmacie (remplissage de diffuseur de 5FU (116), préparation de cassette d'antalgique (117))

La figure 20 présente une pompe Baxa Repeater[®] installée dans une hotte à flux laminaire.

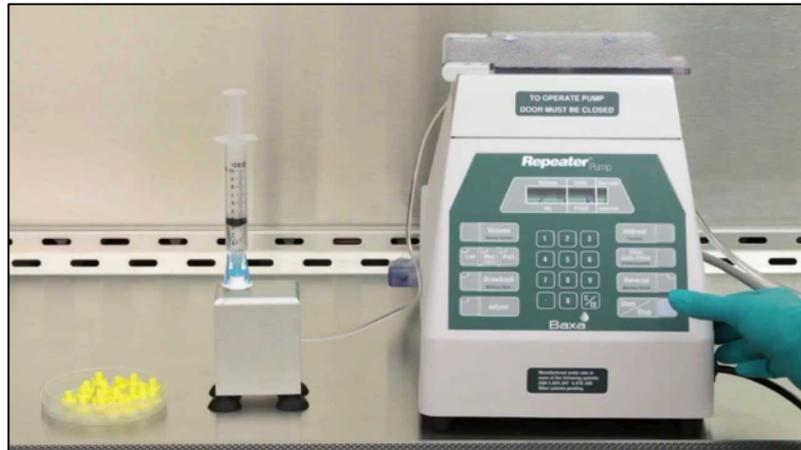


Figure 19 : Pompe péristaltique Baxa Repeater[®] et adaptateur pour le remplissage des seringues

Il existe évidemment d'autres systèmes de pompes péristaltiques. Entre autres, la pompe Flexicon[®] de Watson Marlow qui est souvent mise en avant par la double série de galets permettant d'assurer un transfert d'un volume plus précis (118) (figure 21).



Figure 20 : Pompe Flexicon[®] avec sa double série de galets

L'utilisation de ces systèmes de pompes péristaltiques va être limitée par l'obligation d'une calibration fréquente, notamment lors du changement de conditionnement final et de tubulure, la précision du volume étant liée à la contre-pression exercée par le système. Les matériaux des tubulures utilisées doivent aussi être pris en compte lors du remplissage de produit à risque de sorption.

On retrouve aussi des systèmes de remplissage reposant sur l'utilisation de pousse-seringues, les seringues servant de piston pour le déplacement du liquide. Les plus connus sont les systèmes développés par la société ICU Medical, ce sont des outils polyvalents offrant de une à plusieurs voies (jusque 8) pour le remplissage.

La figure 22 présente un « système tout en un » Diana™ ainsi qu'un système à écran déporté medOC 4 voies.



Figure 21 : Systèmes de remplissage à piston ICU Diana™ et Medoc 4 voies

Ces systèmes ont l'avantage de la nécessité d'une calibration moins fréquente que pour les pompes péristaltiques car ils ne dépendent pas des résistances mécaniques liées au dispositif à remplir et des caractéristiques des tubulures servant au remplissage.

Tous ces systèmes sont relativement polyvalents, malheureusement la possibilité d'automatisation est minime et nécessite toujours la présence d'un opérateur sur l'ensemble des préparations. De plus, l'utilisation de ce type de système multiplie les actes manuels de connexion, déconnexion et reconnexion augmentant ainsi le risque de contamination

On va ainsi retrouver plusieurs systèmes, plus ou moins spécialisés dans le remplissage d'un conditionnement spécifique.

La société Added Pharma a développé un automate de remplissage de seringues appelé SmartFiller[®] permettant la préparation de 5 seringues/min à partir d'un grand volume de solution médicamenteuse en poche. Les seringues sont présentées sous forme de pack de plusieurs unités avec ou sans bouchons. Il ne s'agit pas des références propriétaires et le pharmacien pourra donc choisir les marques et modèles de seringues présentes dans son centre afin de ne pas modifier les habitudes dans les services de soins (notamment les administrations via les pousse-seringues électriques). De plus, la préparation de seringues permet d'offrir aux services de soins des unités prêtes à l'emploi réduisant ainsi les risques liés à la préparation dans le service.

Le principal défaut de ce système est sa faible polyvalence, il n'est possible de faire que des seringues, qui plus est, même si les seringues sont vendues en pack de 25 seringues, il faut tout de même les placer individuellement à la main dans l'automate.

4.2. Automates de préparation

Les automates sont présents dans de nombreux services de soins (imagerie, chirurgie, radiothérapie) à l'inverse de la pharmacie hospitalière qui reste sous-automatisée, bien qu'actuellement des efforts sont consentis afin de combler ce retard. La préparation des médicaments injectables est une tâche encore essentiellement manuelle reposant sur les compétences d'un personnel formé avec les conséquences que peut avoir l'intégration d'un facteur humain dans un processus de production.

Actuellement, plusieurs automates de préparation existent (les noms et liens vers les sites web sont donnés pour information) :

- Intellifill IV Robot (www.fhtinc.com)
- RIVA Robot (www.intelligenthospitals.com)
- I.V.Station ONCO™ (<http://www.aesynt.com/iv-solutions/iv-station-onco>)
(exemple en figure 19)

- Cytotoxic formulating machine (<http://www.medicaldispensing.nl>)



Figure 22 : Automate de préparation I.V.Station ONCO™

Ces systèmes sont volumineux et coûteux car conçus pour reproduire la gestuelle humaine dans un contexte de préparation magistrale, c'est à dire capable de préparer des doses unitaires (flacons, poches, seringues) adaptées à chaque patient à partir de produits commerciaux. Il s'agit donc essentiellement de systèmes conçus pour la préparation des chimiothérapies.

Dans le cadre de préparations hospitalières en unité CIVAS, il ne s'agit majoritairement pas de préparations magistrales mais de préparations hospitalières. Il s'agit donc d'une production par lot de plusieurs unités à partir d'une solution unique (appelé vrac ou « bulk ») fabriquée en une seule fois et reconditionnée en de multiples doses.

Bien que les robots précédemment décrits soient capables de produire plusieurs fois la même préparation, ils ne sont pas, en termes de fréquences et de coûts, adaptés à la préparation par lot.

Dans ce contexte, les outils qui vont être réellement adaptés à une préparation CIVAS sont plutôt les systèmes de remplissage qui ne vont pas préparer la solution initiale mais plutôt la reconditionner.

Ainsi, Il existe finalement peu de solutions englobant, pour un même matériel, les critères de polyvalence de conditionnement, d'automatisation du remplissage et de maîtrise des conditions d'asepsie.

Dans ce contexte, et fort des connaissances et de l'intérêt que peut avoir l'utilisation du COC en tant que matériau de conditionnement nous avons, dans le cadre de cette thèse évalué un nouveau type de flacons prêts à l'emploi, déjà clos et associés à un système de remplissage automatisable garantissant une maîtrise du processus aseptique, la technologie Crystal[®] (Aseptic Technologies, Gembloux, Belgique).

4.3. La technologie Crystal[®]

La société Aseptic Technologies a développé une technologie de remplissage aseptique de flacons clos visant à minimiser les risques de contamination, tout en simplifiant le processus.

Cette technologie repose sur 2 éléments complémentaires :

- Flacons clos en COC, prêts à remplir, moulés et directement assemblés puis gamma-stérilisés (figure 23, volumes disponibles 1, 2, 6, 10, 20 et 50mL). Le flacon présente un bouchon en élastomère thermoplastique (TPE thermoplastic elastomer) pouvant être refusionné à l'aide d'une source d'énergie. Il est complété, une fois rempli, par la mise en place d'un système de fermeture inviolable de type « flip-off » (figure 24).



Figure 23 : Flacons Crystal® clos, stérilisés et prêts à remplir



Figure 24 : Flacon Crystal® rempli après mise en place du « flip-off »

- La ligne de remplissage des flacons permet :
 - Le remplissage direct du flacon à travers le bouchon en élastomère à l'aide d'une aiguille spéciale présentant des événements pour l'équilibre des pressions et spécialement biseautée pour limiter les phénomènes de carottage de l'élastomère
 - La soudure laser immédiate pour restaurer l'intégrité du bouchon
 - La mise en place du flip-off

La photographie de la ligne automatisée L1 Robot Line est présentée en figure 25 et le schéma du processus de remplissage en figure 26.



Figure 25 : Ligne automatisée de remplissage L1 Robot Line

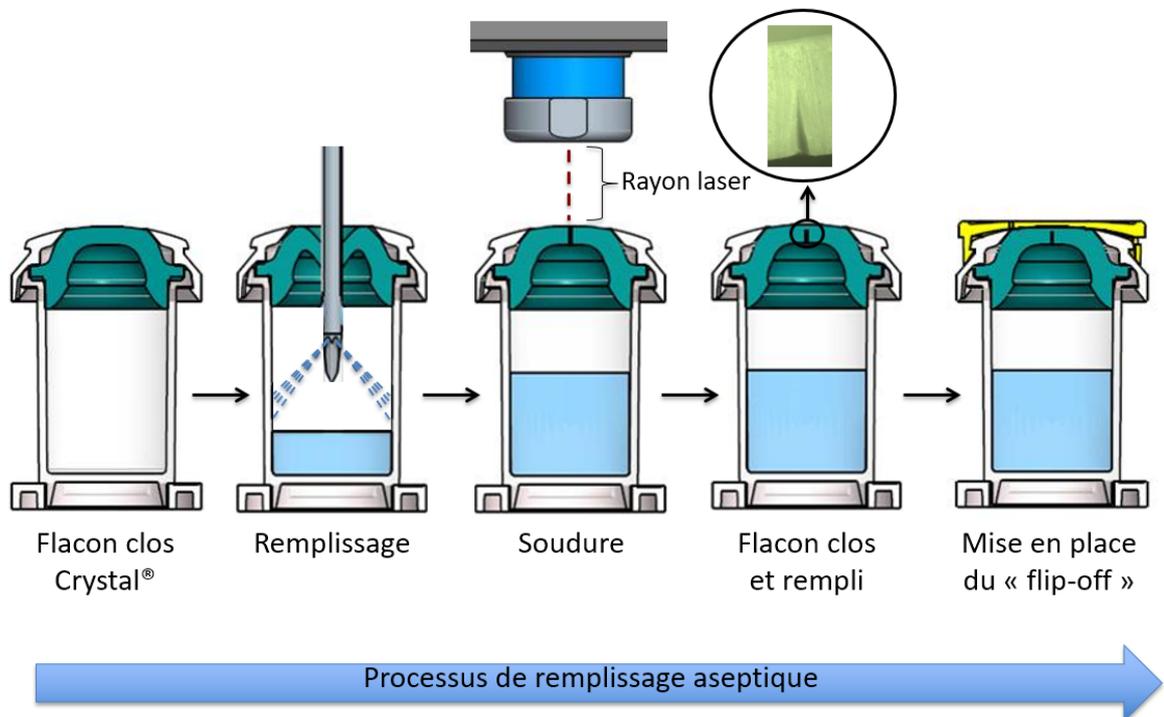


Figure 26 : Schématisation du processus de remplissage

Ce système présente plusieurs avantages :

- Le risque de contamination microbiologique est quasi-nul. Le flacon préalablement stérilisé en usine est en effet toujours clos et l'intérieur du conditionnement n'est jamais en contact avec l'environnement (119,120).
- Le risque de bris est faible grâce à la résistance mécanique du COC.
- Le processus de remplissage des flacons est simplifié par rapport au processus classique de remplissage des flacons (gestion séparée des corps et des bouchons, remplissage, mise en place du bouchon et sertissage).
- Le rendement est important avec un nombre maximal de flacons remplis de 600/heure

On peut souligner que l'utilisation de flacons dans le cadre d'une unité CIVAS peut être sujet à débat, la solution conditionnée est en effet prête à l'emploi (ready-to-use) mais le produit n'est pas prêt à administrer (ready-to-administer) puisqu'il va nécessiter un ultime prélèvement avant l'injection au patient (à l'inverse d'une seringue).

Il faut néanmoins prendre en compte les avantages liés au processus (maîtrise de l'asepsie), au matériau (le COC) ainsi qu'aux considérations logistiques (encombrement et stockage) que peut avoir cette technologie de remplissage de flacons. Si besoin, une nouvelle ligne de remplissage SL1 (figure 27) présente en plus l'avantage d'être polyvalente (flacons en COC, en verre et seringues).



Figure 27 : Ligne polyvalente de remplissage SL1 Robot Line

Cependant, cette technologie est récente et peu évaluée. Le conditionnement de préparations injectables dans ce nouveau type de flacon et l'impact des matériaux du corps et du bouchon sur la stabilité des médicaments n'ont jamais été étudiés.

L'évaluation que nous nous proposons de faire dans la partie expérimentale de ce travail permettra ainsi de s'assurer de la qualité des préparations effectuées et de l'intérêt d'un tel automate au sein d'une pharmacie d'un centre hospitalier.

Partie expérimentale

Introduction

Comme nous venons de le voir, le COC est en théorie un matériau à faible risque d'interaction contenu-contenant. Néanmoins, il n'y a actuellement pas d'études publiées ayant évalué la stabilité de produits pharmaceutiques dans des conditionnements primaires composés de ce polymère. De plus, les flacons Crystal[®] possèdent un bouchon en élastomère thermoplastique de composition propriétaire qui doit être évalué.

Nous avons donc, dans un premier temps, évalué le flacon Crystal[®] vis à vis des grands risques d'interaction évoqués précédemment avec les différents matériaux, à savoir :

- Le risque de sorption
- Le risque de perméation
- Le risque de relargage particulière en fonction du pH de la solution conditionnée
- Le risque de relargage des plastifiants

Dans un second temps, nous avons étudié la stabilité, dans les flacons Crystal[®] et à titre comparatif, dans les seringues en polypropylène, de 3 molécules pouvant prétendre à une préparation centralisée : le céfuroxime, le midazolam et la noradrénaline. Ces études de stabilité, par une mesure régulière de la concentration en principe actif et en produits de dégradation (méthodes analytiques qualifiées d'indicateurs de stabilité) vont permettre de mettre en évidence l'apparition d'une éventuelle instabilité des préparations au cours du temps selon différentes modalités de conservation (température et humidité). Afin de faciliter la mise en place de la technologie Crystal[®] au sein de la pharmacie de l'hôpital, ces études de stabilité vont permettre de déterminer les durées de stabilité maximales et donc d'optimiser la programmation des préparations de lots en adéquation avec les besoins des services et les dates de péremptions que nous aurons définies.

1^{ère} Partie : Evaluation du flacon Crystal[®] vis-à-vis des principaux risques d'interactions

1. Risque de sorption

Les phénomènes de sorption sont caractérisés par la diminution de la concentration d'un élément de la solution par liaison (adsorption), puis diffusion (absorption) de la molécule dans le matériau.

Comme indiqué dans la partie générale, certains matériaux comme le PVC sont plus sujets à cette problématique surtout lorsque la molécule présente un caractère lipophile. Ainsi nous avons vu (figure 14) que les 22 molécules présentant des phénomènes de sorption sont des molécules ayant un coefficient de partage octanol/eau positif et donc ayant une tendance lipophile.

La littérature confirme le fait que le risque existe essentiellement sur les molécules lipophiles plus sujettes à interagir avec le caractère hydrophobe des plastiques utilisés pour le conditionnement (121,122).

Pour rappel, le COC est caractérisé comme étant un matériau hydrophobe. Théoriquement, le risque de phénomène de sorption avec les produits lipophiles existe donc.

Afin de vérifier ce risque potentiel de sorption, nous avons étudié l'évolution des concentrations de 11 molécules cytotoxiques conditionnées dans le flacon Crystal[®]. Les études ont toujours été réalisées sur des flacons conservés en position droite mais aussi retournée afin de mettre en évidence des phénomènes d'interaction avec le corps en COC mais aussi avec le bouchon en composés élastomériques. Les 11 molécules choisies sont représentatives d'une large gamme de lipophilie (figure 28) caractérisée par le coefficient octanol/eau (Log P) prédit (programme ALOGPS et logiciel ChemAxon (123–125)).

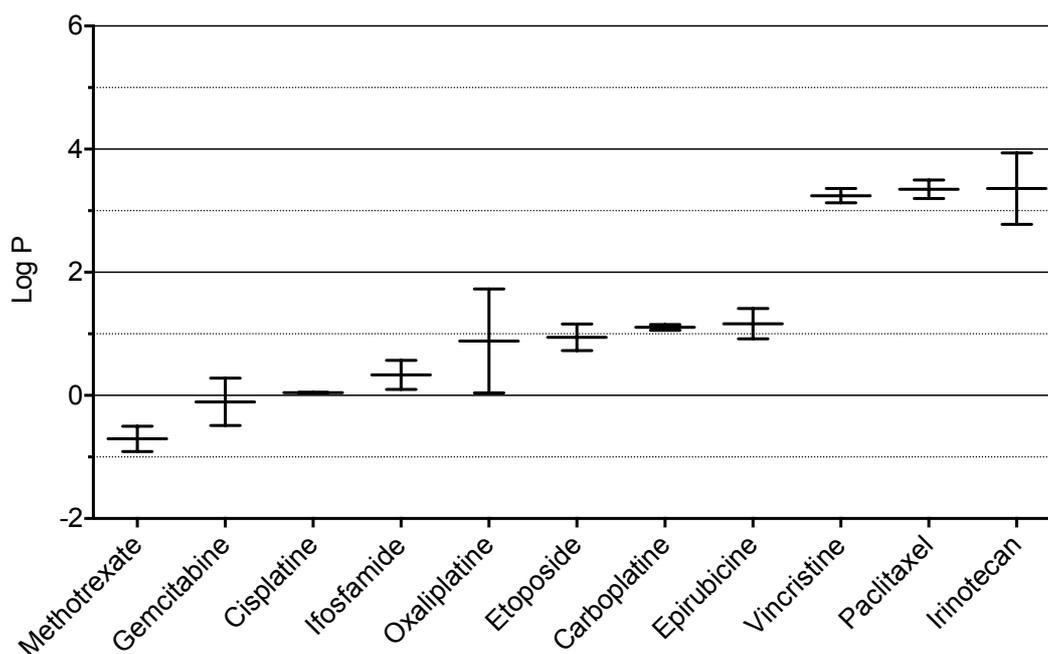


Figure 28 : Coefficients de partage octanol / eau prédits pour les différents cytotoxiques étudiés

Ce travail sur des molécules cytotoxiques a aussi été motivé par l'intérêt industriel que pouvait avoir cette classe de médicaments pour la société Aseptic Technologies, mais surtout pour le travail de développement des méthodes analytiques que cela impliquait et qui ouvrait des possibilités sur d'autres types d'analyses dépassant le cadre de cette thèse (analyse de traces par exemple).

1.1. Evolution des dosages par spectrométrie de masse sur 3 mois de 8 préparations de molécules cytotoxiques conservées en flacons Crystal[®], évaluation du risque de sorption comparé au flacon commercial

1.1.1. Introduction

La stabilité de 8 principes actifs cytotoxiques (méthotrexate, gemcitabine, ifosfamide, étoposide, vincristine, paclitaxel et irinotecan) a été étudiée sur 3 mois en comparant l'évolution des concentrations des solutions commerciales reconditionnées en flacons Crystal[®] stockés en position droite et retournée et une même solution conservée dans le flacon commercial en verre. Par comparaison, l'objectif était de démontrer une éventuelle diminution de concentration dans les flacons Crystal[®] non observée dans le conditionnement commercial pouvant avoir pour origine un phénomène de sorption

due au conditionnement (corps du flacon et bouchon élastomérique). Ce travail a été réalisé aux Hôpitaux Universitaires de Genève et, pour ces produits, une technique de dosage par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC/MS/MS) a été développée et validée. La production des ions était réalisée par ionisation par électrobuliseur (electrospray ionisation ESI).

1.1.2. Matériels et méthodes

1.1.2.1. Méthode de dosage par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

Le système utilisé était un appareil de chromatographie liquide Waters Acquity UPLC H-Class System associé à un spectromètre de masse MS/MS Waters Acquity TQD.

La séparation des constituants reposait sur l'utilisation d'une colonne Cortecs C18+ de porosité 2,8µm et de longueur 50mm et d'un gradient de phase mobile composé d'eau (Système de production d'eau pure Synergy sans cartouche Millipore), d'acétonitrile (LiChrosol[®] hypergrade for LC-MS, Merck) et d'acide formique 0,1% (Formic acid 99% ULC/MS, Biosolve Chemicals) à un débit de 0,8mL/min selon la chronologie suivante :

- t=0,00min ; 90,0% Eau / 0,0% Acétonitrile / 10,0% Acide formique 0,1%
- t=0,05min ; 68,5% Eau / 21,5% Acétonitrile / 10,0% Acide formique 0,1%
- t=0,95min ; 67,5% Eau / 22,5% Acétonitrile / 10,0% Acide formique 0,1%
- t=1,00min ; 0,0% Eau / 90,0% Acétonitrile / 10,0% Acide formique 0,1%
- t=1,20min ; 0,0% Eau / 90,0% Acétonitrile / 10,0% Acide formique 0,1%
- t=3,50min ; 90,0% Eau / 0,0% Acétonitrile / 10,0% Acide formique 0,1%

Le volume d'injection était de 10µL. L'identification et la quantification reposaient sur l'utilisation du mode MRM (Multiple Reaction Monitoring) ou l'ion parent à étudier est sélectionné par le premier analyseur et fragmenté dans la cellule de collision. Le second analyseur est focalisé sur l'ion produit. Ce mode de fonctionnement présente donc une double sélectivité, au niveau des sélections de l'ion parent et de l'ion produit.

La validation analytique a été réalisée selon la méthodologie du profil d'exactitude en accord avec les recommandations de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP, (126)). Sur 3 jours (3 séries), 3 points de calibration (70%, 100% et 120%) ont été répétés 2 fois chaque jour et 3 points de validation ont été répétés 3 fois chaque jour.

1.1.2.2. Etude de stabilité

Le tableau 4 présente les formes commerciales des 8 cytotoxiques utilisés et dosés par HPLC/MS/MS

Tableau 4 : Spécialités cytotoxiques utilisées et formulations galéniques

Spécialité	Formulation galénique
Paclitaxel (paclitaxel) LABATEC 300mg/50mL	Acide citrique anhydre Cremophor® EL Ethanol anhydre 0,39 g pour 1mL de solution
Irinotécan (irinotecan hydrochloride trihydrate) ACTAVIS 500mg/25mL	Sorbitol Acide lactique Eau pour préparations injectables (EPPI)
Etoposide (etoposide) SANDOZ 100mg/5mL	Acide citrique Polysorbate 80 Macrogol 300 Alcool benzylique 20 mg pour 1mL de solution Ethanol 96% 246 mg pour 1mL de solution
Methotrexat (methotrexate) FARMOS 20mg/8mL	Chlorure de Sodium (NaCl) EPPI
Vincristine (vincristine sulfate) TEVA 2mg/2mL	Mannitol EPPI
Gemcitabine (gemcitabine chlorhydrate) HOSPIRA 2000mg/52,6mL	EPPI Acide chlorhydrique (E507) Hydroxyde de sodium (E524) (pour ajustement du pH 2,0-3,0 ; Osmolarité: 266 mOsm/L)
Ifosfamide (ifosfamide) EG 2000mg/50mL	Phosphate disodique dihydraté NaCl Acide chlorhydrique concentré EPPI
Epirubicine (epirubicine hydrochloride) ACTAVIS 200 mg/100mL	NaCl EPPI

- *Déroulement de l'étude*
 - **Remplissage à J0**

Pour réduire le risque de contamination et d'exposition de l'environnement et du personnel aux agents cytotoxiques, toutes les manipulations ont été réalisées sous hotte à flux d'air laminaire vertical CytoFAST (Oxygen, Courtaboeuf, France).

Pour chacun des 8 cytotoxiques, 20 mL de produits ont été prélevés à la seringue (BD Plastipak 30mL, Becton-Dickinson) dans le flacon commercial puis répartis dans 20 flacons Crystal[®] de 1mL qui sont les flacons présentant la plus importante surface de contact en rapport avec le volume conditionné.

Pour les formes commerciales contenant moins de 20mL, lesquels étaient nécessaires au remplissage, plusieurs flacons étaient poolés afin d'atteindre le volume requis.

Dans tous les cas, et pour toute l'étude, pour chaque cytotoxique, un unique lot commercial a été utilisé.

Pour limiter les volumes morts et maîtriser le risque de contamination, un kit spécifique de remplissage a été fabriqué afin de permettre le remplissage direct à partir de la seringue ayant servi au prélèvement.

Les flacons ont ensuite été stockés au réfrigérateur à 5°C (LIEBHERR LKEXV1800) pour la vincristine, la gemcitabine, l'ifosfamide, l'épirubicine et en enceinte thermostatée à 25°C (MEMMERT, Schwabach, Allemagne) pour le paclitaxel, l'irinotécan, l'étoposide et le methotrexate en accord avec les recommandations de conservation données par le fabricant pour chaque cytotoxique.

Afin d'être discriminant sur l'impact du bouchon par rapport au corps, les flacons Crystal[®] ont été conservés droits et retournés (10 de chaque côté).

- **Jours d'analyse**

Des analyses ont été réalisées à J0, J7, J14, J36, J62 et J92.

A chaque jour d'analyse, des prélèvements (dans des flacons neufs) de chacun des cytotoxiques étaient poolés afin de fabriquer 3 standards d'étalonnage contenant l'ensemble des 8 cytotoxiques (cf. schéma présenté en figure 29). Le processus de dilution étant identique pour les 4 cytotoxiques fortement concentrés (Ifosfamide, Irinotécan, Gemcitabine, Etoposide) et les 4 cytotoxiques les moins concentrés, la valeur cible du 100% varie pour chacun des cytotoxiques en fonction de la concentration initiale. Le tableau 5 résume les valeurs cibles pour chaque cytotoxique.

L'injection des 3 standards (70%, 100% et 120%) était réalisée 3 fois.

Puis, individuellement, pour chaque cytotoxique, la solution commerciale ainsi que les 2 flacons Crystal[®] conservés droits et retournés étaient dilués pour atteindre la valeur cible de 100%.

Les dilutions ont été répétées 2 fois et injectées 2 fois chacune (soit 4 valeurs de concentration par date et par conditionnement).

Tableau 5 : Concentration cible (en ng/mL) en fonction de la molécule

	Concentration en ng/mL
Ifosfamide	400
Irinotecan	200
Gemcitabine	380
Etoposide	200
Méthotrexate	250
Vincristine	100
Epirubicine	200
Paclitaxel	600

La stabilité du médicament conditionné en flacon commercial étant garantie par le fabricant (plus de 1 an de stabilité pour tous les cytotoxiques), le dosage des flacons commerciaux servait de référence (100%) aux dosages des flacons Crystal[®].

Pour corriger les variations analytiques, 2 étalons internes fournis par ALSACHIM ont été utilisés, le [2H8]-Cyclophosphamide et le [13C ; 2H3]-Méthotrexate.

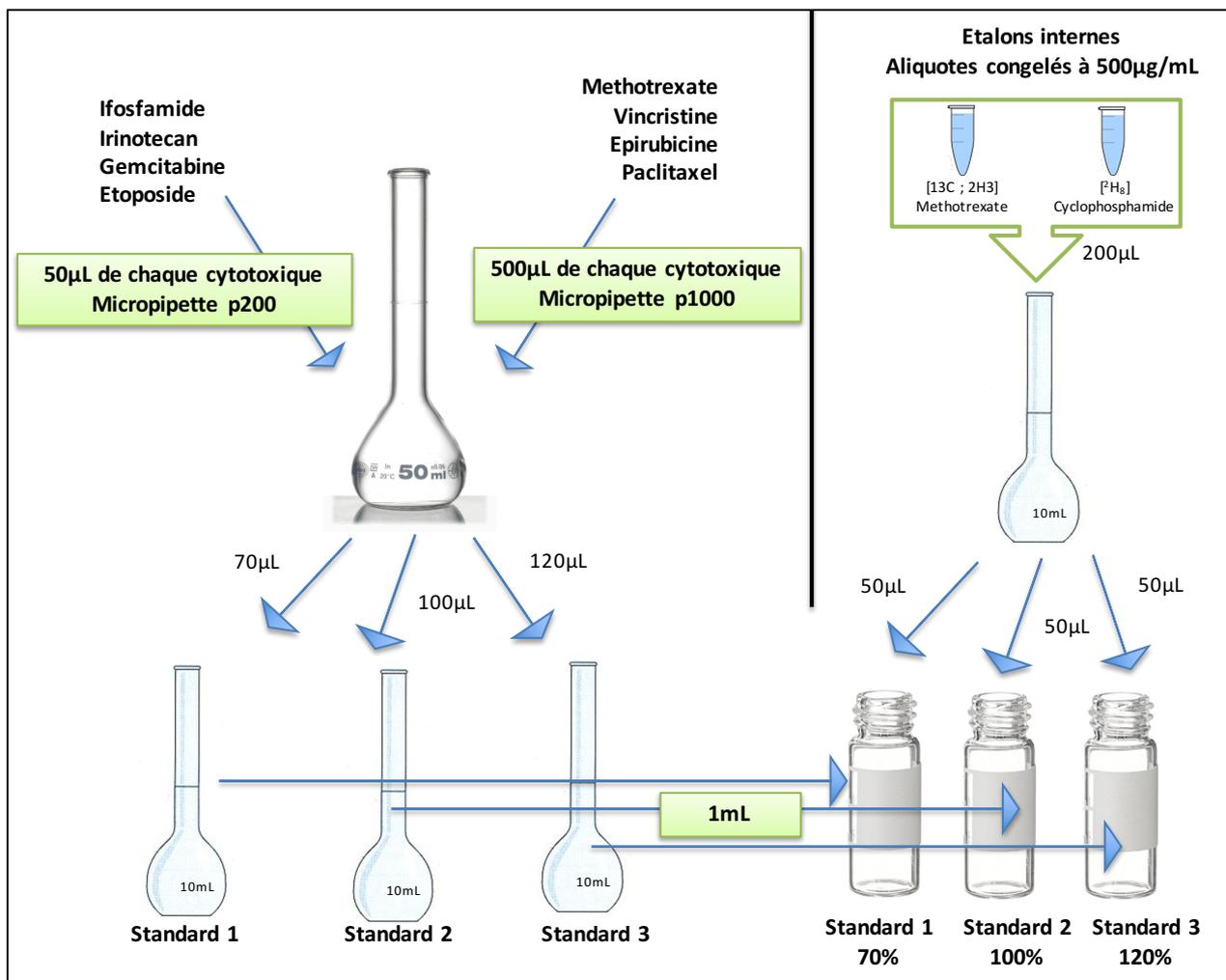


Figure 29 : Résumé des étapes nécessaires à la préparation des échantillons de cytotoxiques

1.1.3. Résultats

1.1.3.1. Validation analytique

Un chromatogramme représentant l'élution de 8 cytotoxiques est donné en figure 30.

Les masses étudiées lors de l'analyse MRM sont spécifiées sur la figure pour chaque cytotoxique.

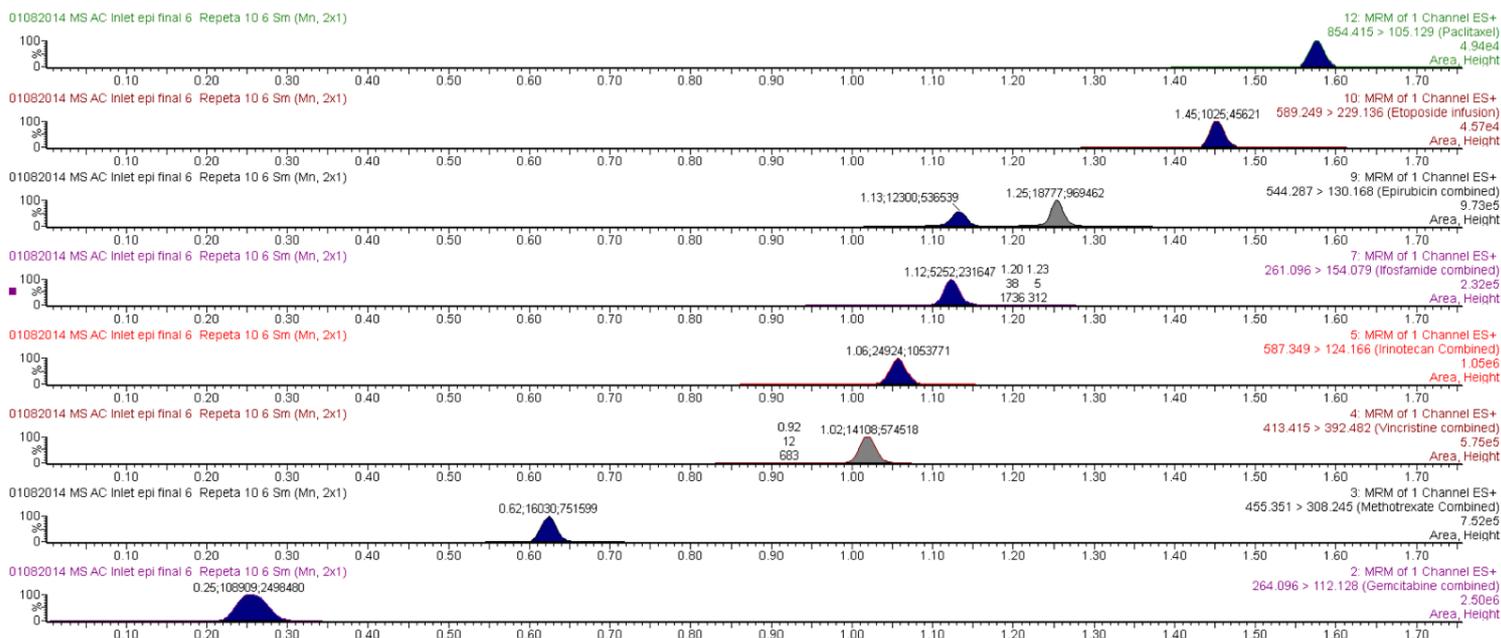


Figure 30 : Chromatogrammes obtenus lors de l'analyse par HPLC/MS/MS des 8 molécules cytotoxiques

La synthèse des erreurs totales (somme de la justesse et de la précision) est donnée dans le tableau 6.

Tableau 6 : Calcul de l'erreur totale obtenue lors de la quantification des 8 cytotoxiques

Gemcitabine			
Concentration (%)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
120	-0,21%	4,29%	4,51%
100	0,01%	2,87%	2,88%
70	-0,11%	4,33%	4,44%
Methotrexate			
Concentration (%)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
120	0,33%	2,68%	3,01%
100	-1,28%	1,72%	2,99%
70	0,11%	2,38%	2,49%
Vincristine			
Concentration (%)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
120	-0,12%	2,42%	2,54%
100	-0,82%	3,26%	4,08%
70	1,54%	3,78%	5,31%
Epirubicine			
Concentration (%)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
120	-0,54%	3,48%	4,02%
100	0,50%	3,79%	4,29%
70	-0,03%	4,57%	4,60%
Ifofosamide			
Concentration (%)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
120	0,80%	2,10%	2,89%
100	-1,12%	3,73%	4,85%
70	-0,63%	2,79%	3,42%

Irinotecan

Concentration (%)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
120	-0,63%	2,44%	3,07%
100	0,04%	2,68%	2,73%
70	-1,21%	5,71%	6,91%

Etoposide

Concentration (%)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
120	0,40%	2,66%	3,05%
100	1,39%	3,06%	4,45%
70	1,98%	3,17%	5,15%

Paclitaxel

Concentration (%)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
120	-2,95%	3,90%	6,85%
100	0,68%	4,90%	5,58%
70	-1,79%	4,27%	6,06%

La méthode utilisée permet une quantification juste et précise.

1.1.3.2. Résultats quantitatifs

L'évolution au cours du temps des concentrations des différents cytotoxiques est donnée dans les figures 31 à 38. Les résultats sont donnés en % (\pm écart-type) de la concentration moyenne de la spécialité (qui sert de référence) pour le jour d'analyse concerné.

Méthotrexate

Temps (jours)	Flacons Crystal [®] conservés droits (% / C _{commerciale})	Flacons Crystal [®] conservés retournés (% / C _{commerciale})
7	98,64 \pm 1,87	96,95 \pm 1,20
14	99,70 \pm 1,54	99,75 \pm 1,77
36	97,98 \pm 2,03	98,22 \pm 1,16
62	99,66 \pm 1,30	96,78 \pm 1,57
92	100,48 \pm 1,51	99,38 \pm 4,61

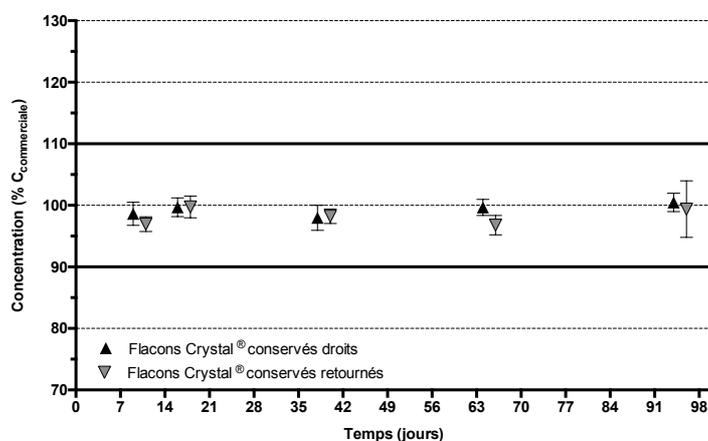


Figure 31 : Stabilité du méthotrexate conservé en flacon Crystal[®]

Gemcitabine

Temps (jours)	Flacons Crystal® conservés droits (% / C _{commerciale})	Flacons Crystal® conservés retournés (% / C _{commerciale})
7	101,87 ± 0,98	101,42 ± 2,43
14	98,82 ± 2,78	100,03 ± 2,38
36	102,66 ± 0,93	104,65 ± 1,58
62	106,49 ± 0,70	105,28 ± 1,52
92	107,91 ± 1,78	108,97 ± 1,74

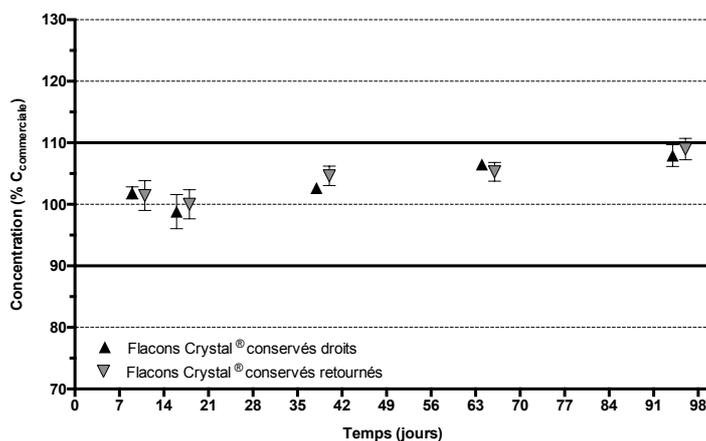


Figure 32 : Stabilité de la gemcitabine conservée en flacon Crystal®

Paclitaxel

Temps (jours)	Flacons Crystal® conservés droits (% / C _{commerciale})	Flacons Crystal® conservés retournés (% / C _{commerciale})
7	96,50 ± 3,46	91,79 ± 3,05
14	108,58 ± 4,77	109,38 ± 2,79
36	100,96 ± 4,60	98,98 ± 5,75
62	104,04 ± 6,12	105,48 ± 5,83
92	92,58 ± 26,25	99,42 ± 7,43

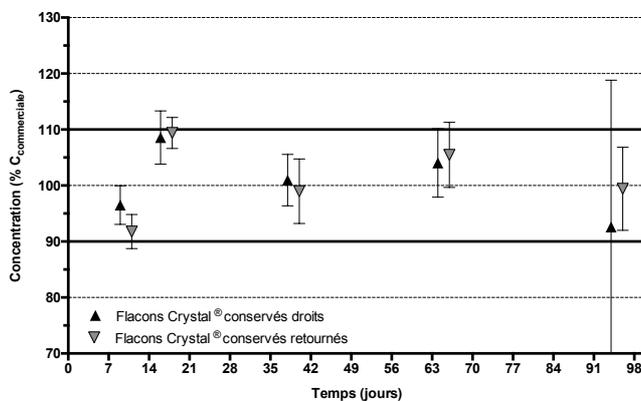


Figure 33 : Stabilité du paclitaxel conservé en flacon Crystal®

Etoposide

Temps (jours)	Flacons Crystal [®] conservés droits (% / C _{commerciale})	Flacons Crystal [®] conservés retournés (% / C _{commerciale})
7	105,36 ± 4,86	100,17 ± 4,49
14	108,03 ± 4,49	111,95 ± 2,04
36	98,17 ± 4,12	97,59 ± 1,87
62	105,56 ± 4,19	108,46 ± 4,70
92	96,43 ± 9,98	106,82 ± 21,96

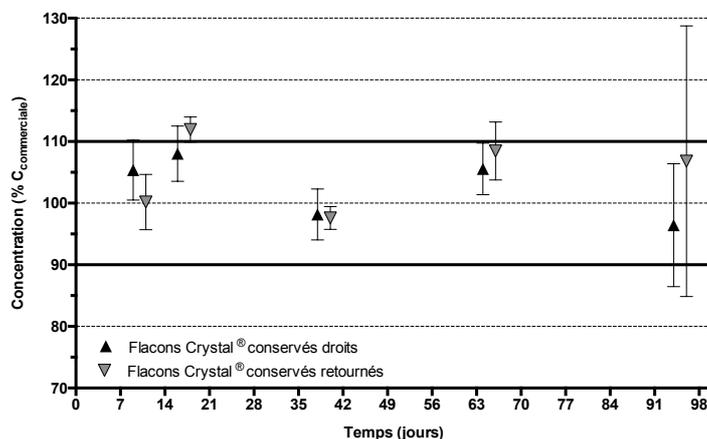


Figure 34 : Stabilité de l'étoposide conservé en flacon Crystal[®]

Epirubicine

Temps (jours)	Flacons Crystal [®] conservés droits (% / C _{commerciale})	Flacons Crystal [®] conservés retournés (% / C _{commerciale})
7	97,18 ± 4,67	103,15 ± 1,55
14	99,54 ± 1,80	102,45 ± 1,07
36	103,22 ± 1,39	102,33 ± 2,47
62	103,63 ± 4,02	102,74 ± 2,07
92	93,00 ± 3,05	95,03 ± 7,13

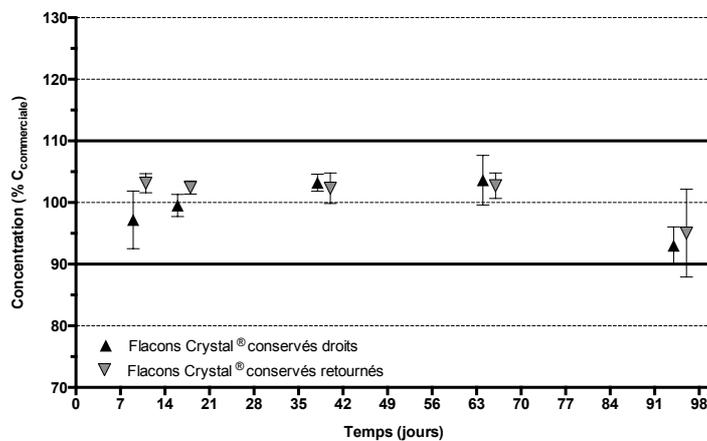


Figure 35 : Stabilité de l'épirubicine conservée en flacon Crystal[®]

Ifosfamide

Temps (jours)	Flacons Crystal® conservés droits (% / C _{commerciale})	Flacons Crystal® conservés retournés (% / C _{commerciale})
7	98,15 ± 3,07	94,51 ± 0,75
14	103,32 ± 3,53	103,67 ± 3,63
36	101,78 ± 2,40	102,96 ± 4,59
62	98,88 ± 5,21	102,11 ± 3,40
92	107,06 ± 13,48	107,70 ± 7,00

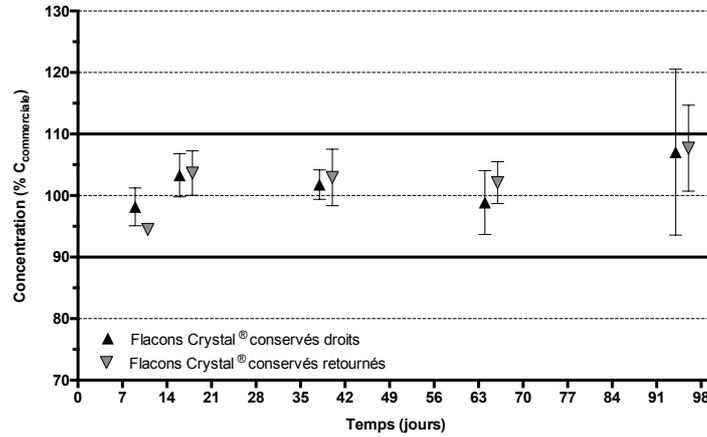


Figure 36 : Stabilité de l'ifosfamide conservé en flacon Crystal®

Irinotecan

Temps (jours)	Flacons Crystal® conservés droits (% / C _{commerciale})	Flacons Crystal® conservés retournés (% / C _{commerciale})
7	95,70 ± 0,96	97,83 ± 3,27
14	97,26 ± 3,50	93,90 ± 6,49
36	96,05 ± 3,04	94,86 ± 2,16
62	101,83 ± 4,48	105,06 ± 1,91
92	97,02 ± 6,76	95,98 ± 1,64

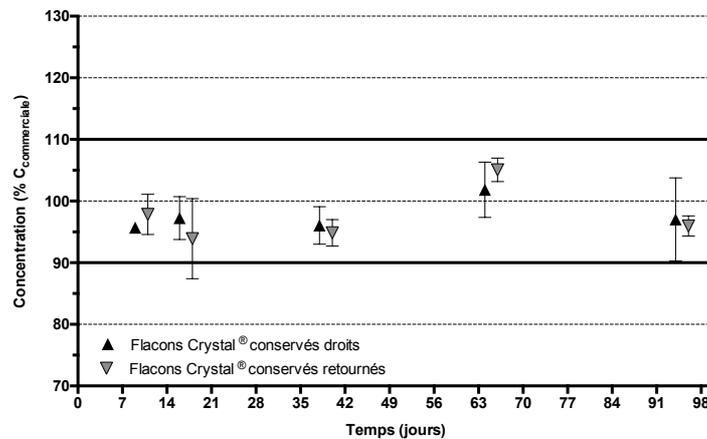


Figure 37 : Stabilité de l'irinotecan conservé en flacon Crystal®

Vincristine

Temps (jours)	Flacons Crystal [®] conservés droits (% / C _{commerciale})	Flacons Crystal [®] conservés retournés (% / C _{commerciale})
7	98,46 ± 5,06	98,33 ± 3,34
14	102,52 ± 3,74	103,07 ± 3,11
36	97,80 ± 3,93	103,52 ± 4,42
62	95,49 ± 3,66	96,92 ± 3,58
92	121,06 ± 13,27	106,17 ± 11,61

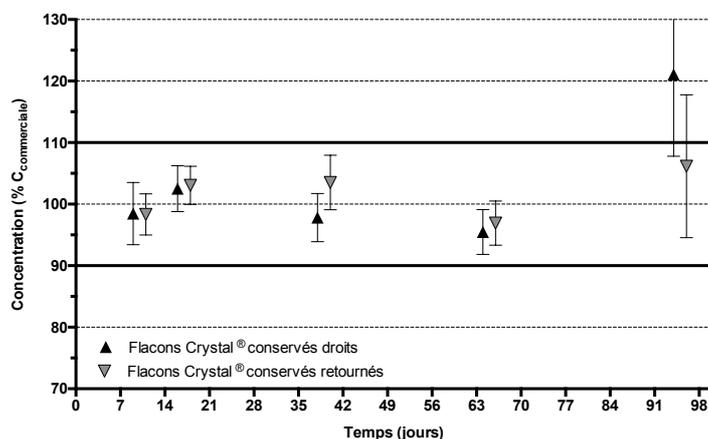


Figure 38 : Stabilité de la vincristine conservée en flacon Crystal[®]

Pour la gemcitabine, le méthotrexate, l'irinotécan et l'épirubicine, la concentration moyenne en principe actif est stable et la différence entre le conditionnement en flacon Crystal[®] (conservé droit et retourné) et le flacon commercial de référence est inférieure à 10% pendant les 92 jours d'étude garantissant l'absence de phénomènes de sorption significatifs.

Pour l'ifosfamide, la vincristine, l'étoposide et le paclitaxel, les dosages à J92 sont plus variables que pour les autres dates d'analyses, cela est dû à un problème d'ionisation dans le spectre de masse (certainement lié aux nombreuses analyses) conduisant à une forte perte de sensibilité et à la nécessité de faire étalonner le spectromètre de masse par le fabricant (malheureusement, le délai pour l'intervention était incompatible avec la durée de l'étude). Par conséquent, la durée de stabilité pour ces molécules a été limitée à 62 jours.

La question posée était de savoir si le risque de sorption était lié à la lipophilie. Un test de corrélation de Pearson a été réalisé entre le coefficient de partage octanol/eau et la concentration à J62 (afin de prendre en compte l'ensemble des cytotoxiques) pour

les flacons Crystal[®] conservés droits et retournés. Les résultats de ces tests (non significatifs, présentés en figure 39) permettent d'infirmer l'hypothèse d'une corrélation.

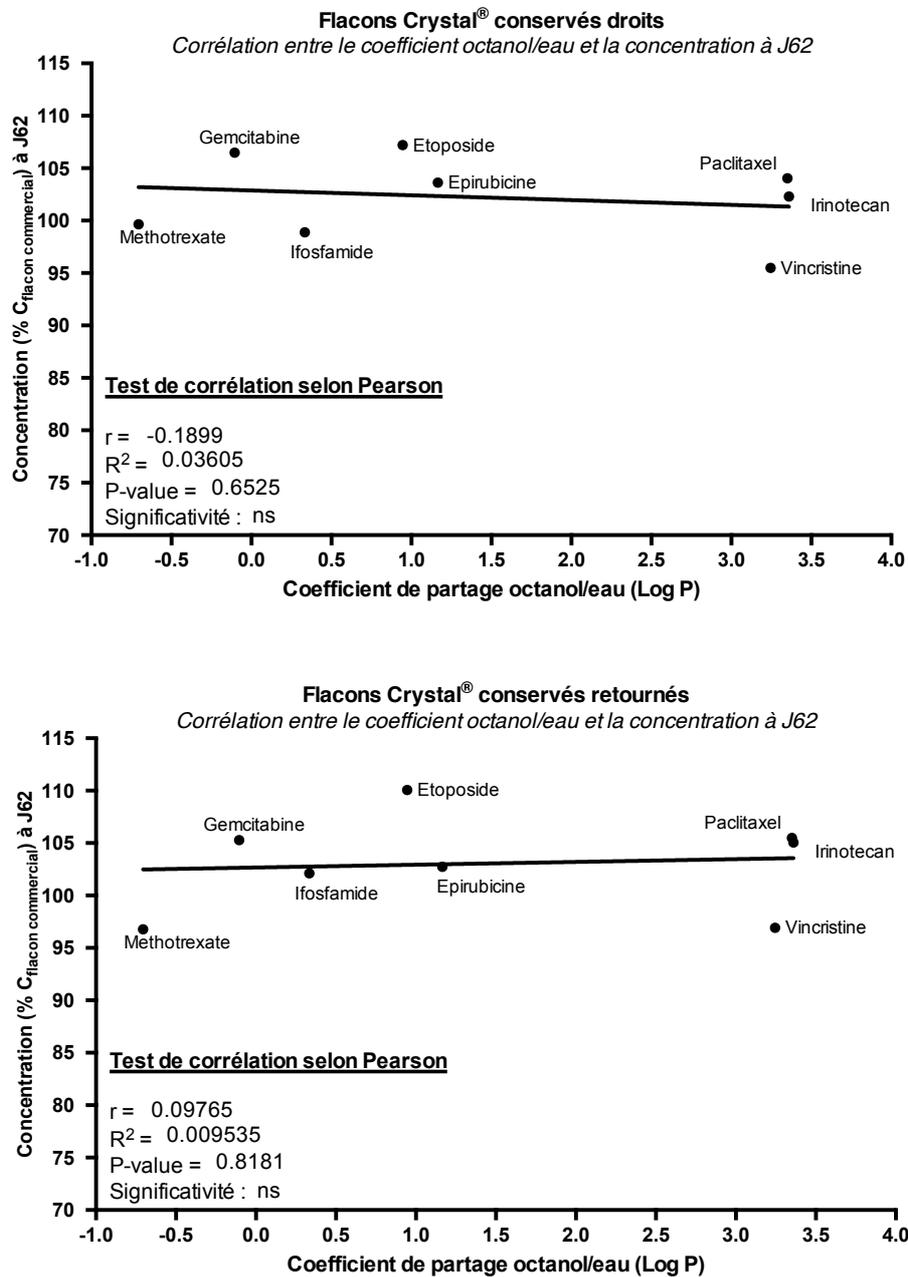


Figure 39 : Tests de corrélation entre le coefficient de partage octanol/eau et les concentrations à J62

1.1.4. Discussion

La forte spécificité et l'exactitude de la méthode validée de dosage par chromatographie liquide associée à la spectrométrie de masse permet d'assurer la présence du principe actif dans la solution reconditionnée en flacon Crystal[®], qu'ils soient stockés droits ou retournés, pendant les 92 jours d'étude pour la gemcitabine, le méthotrexate, l'irinotécan et l'épirubicine et pendant les 62 jours d'étude pour l'ifosfamide, la vincristine, l'étoposide et le paclitaxel. Sur les produits étudiés, la concentration moyenne à J62, comprise entre 90% et 110% n'est pas corrélée au coefficient de partage octanol/eau prédit.

Cette étude ne met donc pas en avant de risques de sorption sur le COC ou sur le bouchon en élastomère pouvant être liés à la lipophilie du principe actif pour les concentrations et les formulations galéniques étudiées.

La méthode de dosage par HPLC/MS/MS développée et validée permet un dosage juste et précis des 8 molécules avec un temps d'analyse extrêmement court. En effet, l'élution des 8 molécules se fait en 1,58 min. Si l'on compte le temps nécessaire au ré-équilibre de la colonne, chaque dosage se fait en 3,5 minutes au total. Cette méthode est très rapide si on la compare aux autres méthodes utilisées : Nussbaumer et *al.* quantifient 10 molécules cytotoxiques par HPLC/MS/MS en 21 min (127).

Il faut aussi noter que cette méthode de dosage nécessitait une forte dilution avant analyse (dilution au 1 / 100 000^{ème}) et intégrait par conséquent une variabilité sur le dosage avec une erreur totale atteignant 6,91% par exemple pour l'irinotécan. Les phénomènes de sorption existent donc peut être mais les conséquences sur la perte de concentration sont non quantifiables.

Il est aussi important de rappeler que le phénomène de migration d'éléments entre la solution médicamenteuse et le polymère plastique est évidemment dépendant de la nature même du polymère (qui impacte sur la constante de liaison avec le polymère) mais aussi de la quantité initiale de produit et de la solubilité de ce produit dans la solution (121).

Ainsi, même si les données sont en faveur d'un risque de sorption faible, les stabilités ne sont dans l'absolu valables que pour les concentrations et les formulations galéniques étudiées.

La présence de formes salifiées, de solubilisants, d'éthanol ou de solvants organiques peuvent ainsi limiter les sorptions en augmentant la solubilité du principe actif. Ainsi en 2010, Fukazawa *et al.* (128) ont démontré que le paclitaxel, qui possède un fort pouvoir d'adsorption sur des microplaques en polypropylène lorsqu'il est utilisé seul dilué dans l'eau (70% d'adsorption au bout de 3 heures), peut voir son adsorption fortement diminuée par l'ajout de solvants amphiphiles tels que l'acétonitrile ou le méthanol. De la même manière Li *et al.* (129), ont montré que le phénomène de sorption du calcitriol sur le chlorure de polyvinyle (PVC) était largement diminué par la présence de surfactant (Tween 20). La prise en compte du coefficient de partage octanol/eau (Log P) seul doit être reconsidéré au vu de l'impact de ces différents critères.

Concernant ce coefficient de partage, une des limites possibles de cette évaluation est l'utilisation d'un Log P théorique, calculé à partir de la structure moléculaire, peut être non représentatif de la solubilité réelle du produit surtout pour ces formes salifiées.

Bien que l'argument soit exact, la séparation chromatographique de l'ensemble des molécules reposant sur l'utilisation d'une colonne hydrophobe (C18) et d'un gradient commençant à 100% de solvant aqueux (90% d'eau et 10% d'acide formique 0,1%) et finissant à 90% d'acétonitrile confirme le fait que l'étude a bien été réalisée sur un panel large de lipophilie. L'utilisation des caractéristiques de rétention en chromatographie liquide est d'ailleurs un outil reconnu pour la détermination expérimentale du Log P (121,130,131).

Comme précisé dans l'introduction, pour cette étude nous avons dans un premier temps envisagé d'intégrer les molécules cytotoxiques dérivées du platine (oxaliplatine, cisplatine et carboplatine). Ce sont des molécules difficilement ionisables en ESI et qui n'ont finalement pas pu être dosées par la spectrométrie de masse. Dans ce contexte, nous avons évalué la faisabilité de l'analyse par rayonnement magnétique nucléaire (RMN).

1.2. Evolution des dosages sur 24 heures de 3 préparations de molécules dérivées du platine conservées en flacon Crystal[®] par RMN, évaluation du risque de sorption comparé au flacon commercial

1.2.1. Introduction

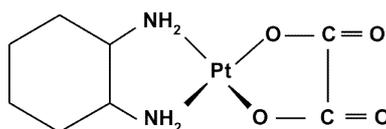
Pour les molécules de la famille du platine (cisplatine, oxaliplatine et carboplatine), l'utilisation de la spectrométrie de masse a été limitée par l'incapacité de nébuliser correctement les molécules en ESI. Pour des raisons de coûts et de faisabilité technique, nous avons, dans un premier temps, évalué expérimentalement les risques d'adsorption à court terme (24 heures) entre ces molécules de la famille du platine et le corps en COC du flacon Crystal[®].

1.2.2. Matériels et méthodes

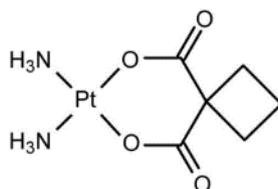
1.2.2.1. Produits utilisés et analyse par RMN

Les solutions commerciales testées sont :

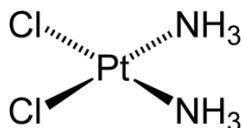
- Oxaliplatine (Teva) 5mg/mL
 - Excipients : Lactose, NaOH, Eau Pour Préparations Injectables (EPPI)
 - PM = 399 g/mol



- Carboplatine (Mylan) 10mg/mL
 - Excipient : EPPI
 - PM = 371 g/mol



- Cisplatine (Mylan) 1mg/mL
 - Excipients: NaCl, HCl, EPPI
 - PM = 298 g/mol



L'analyse RMN a été effectuée sur le spectromètre AVANCE 500 BRUKER du Laboratoire d'Application R.M.N. de la Faculté de Pharmacie de Lille 2.

Pour l'oxaliplatine et le carboplatine, 300 μ L de solution commerciale ont été introduits dans un tube à RMN et 100 μ L de solution étalon (Sodium Trimethylsilylpropionate deutéré, TMSPd₄ à 13,35 mM) ont été ajoutés.

Le cisplatine ne possédant que des protons mobiles (H des NH₃), la solution étalon était séparée (au lieu d'être mélangée) de la solution de cisplatine à l'aide d'un double capillaire pour éviter les échanges entre les protons de l'étalon et les protons de la solution de cisplatine.

L'attribution des protons a été réalisée à partir des spectres du proton à une dimension (1D) et des corrélations à deux dimensions proton-proton et proton-carbone [¹H-¹H (COSY), ¹H-¹³C (HSQC à travers une liaison)].

L'intégration (représentative de la quantité de protons et donc de la concentration molaire de l'élément) du signal a été réalisée sur le spectre 1D. En cas d'absence d'interaction à court terme pouvant conduire à une baisse de concentration, l'intégration devait être identique entre les solutions commerciales à t=0 et t=24h et les flacons Crystal[®] à t=24h.

1.2.2.2. Etude de stabilité sur 24 heures

Pour chacun des cytotoxiques les étapes suivantes ont été réalisées :

1^{ère} étape : temps H₀

- Prélèvement de 1mL de la solution commerciale à l'aide d'une seringue Luer-Lock 3mL polypropylène (PP) (Terumo) et conditionnement dans 3 flacons Crystal[®] de 1mL.
- Prélèvement à la seringue de 1mL Luer-Lock PP (Becton-Dickinson) de 300µL de chacun des flacons Crystal[®] et de la solution commerciale et mise en tube RMN (soit 4 tubes RMN)
- Dosage par RMN

2^e étape : temps H₂₄

- Prélèvement à la seringue de 1mL Luer-Lock PP (Becton-Dickinson) de 300µL de chacun des flacons Crystal[®] et de la solution commerciale et mise en tube RMN (soit 4 tubes RMN)
- Dosage par RMN

La figure 40 illustre le protocole d'étude réalisé en prenant le cisplatine en exemple.

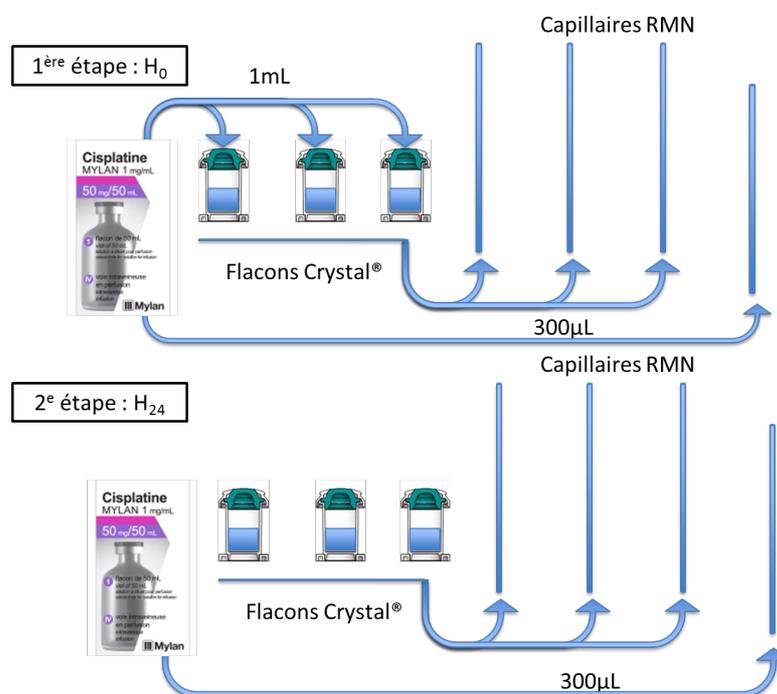


Figure 40 : Déroulement de l'étude de stabilité sur 24 heures, exemple du cisplatine

1.2.3. Résultats et discussion

1.2.3.1. Etude de stabilité sur 24 heures

- Solution de Carboplatine à 10 mg/mL

Le spectre RMN de la solution de carboplatine est donné sur la figure 41.

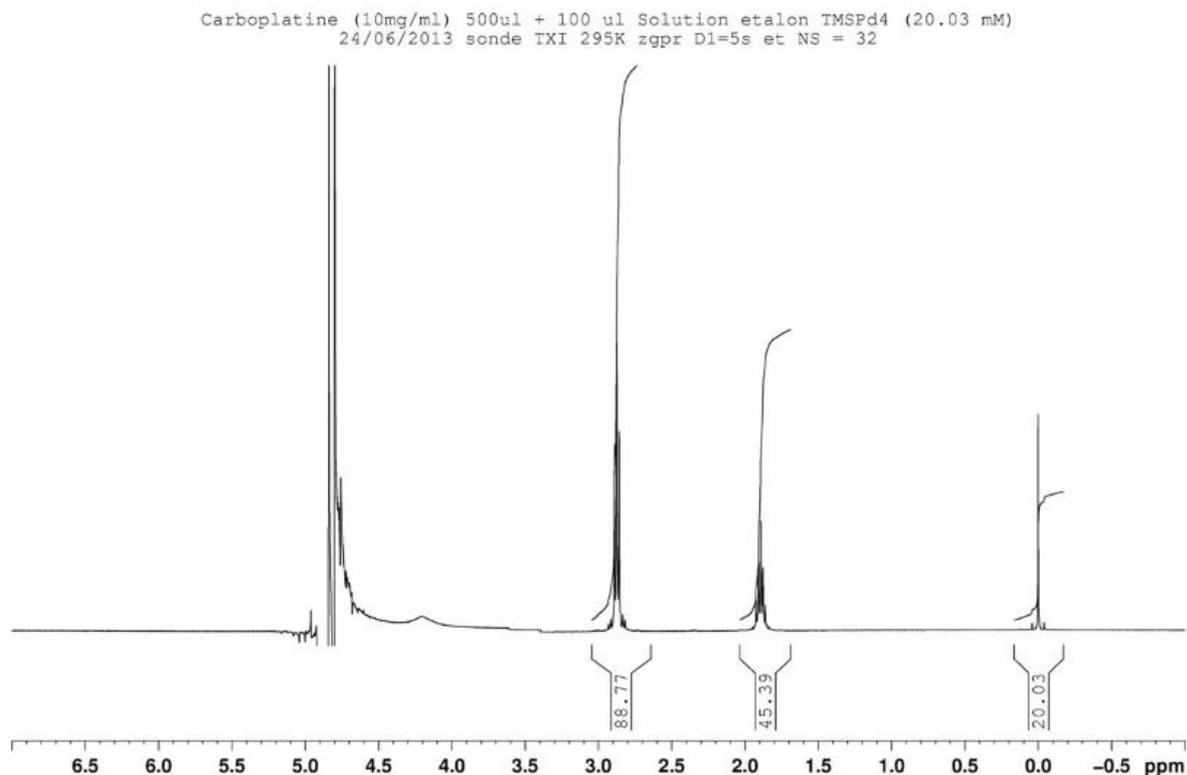


Figure 41 : Spectre RMN de la solution de carboplatine à 10mg/mL

L'attribution du spectre ^1H de la solution de carboplatine est présentée dans le tableau 7.

Tableau 7 : Attribution et intégration des protons du spectre du carboplatine

^1H δ (ppm)	Attribution	Multiplicités
0	TMSPd4	singulet
1,89	CH_2 en γ de CO	quintuplet
2,87	2 CH_2 en β de CO	triplet
4,80	Résiduel H_2O	

Les résultats des intégrations sont donnés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Intégration des signaux de la solution de carboplatine à 5 mg/mL

	Sol. Commerciale T0	Sol. Commerciale T=24h	Flacons Crystal® T=24h (n=3)	Différence avec la Sol. Commerciale à T=24h (%)
1,89 ppm (CH2)	53,80	54,59	54,44 ± 0,93	-0,28%
2,87 ppm (2 CH2)	106,14	107,83	107,56 ± 1,94	-0,25%

Les différences d'intégration au bout de 24 heures entre les flacons Crystal® et la solution commerciale de carboplatine sont inférieures à -0,28%, les concentrations sont donc considérées identiques. La solution est stable pendant 24 heures.

- *Solution d'Oxaliplatine à 5mg/mL*

Le spectre RMN de la solution de l'oxaliplatine est donné sur la figure 42.

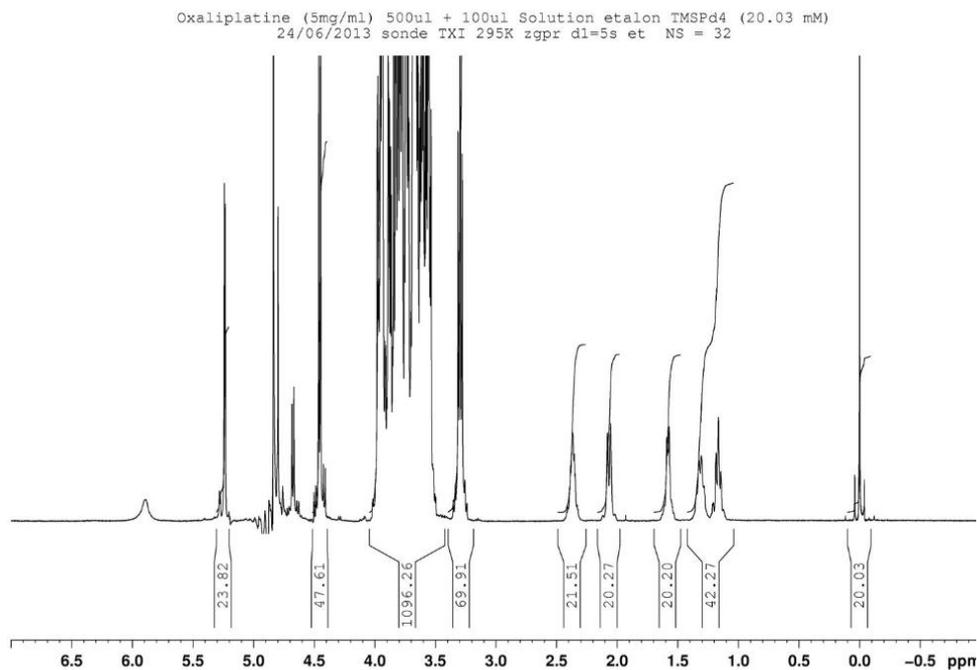


Figure 42 : Spectre RMN de la solution à 5mg/mL d'oxaliplatine

L'attribution du spectre ^1H de la solution d'oxaliplatine est présentée dans le tableau 9.

Tableau 9 : Attribution et intégration des protons du spectre de l'oxaliplatine

^1H δ (ppm)	Attribution	Multiplicités
0	TMSPd4	singulet
1,16	(H de CH_2 en γ de NH_2) $\times 2$	massif
1,31	(H de CH_2 en β de NH_2) $\times 2$	massif
1,58	(H de CH_2 en γ de NH_2) $\times 2$	massif
2,07	(H de CH_2 en β de NH_2) $\times 2$	massif
2,37	CH en α de NH_2	massif
Entre 3,02 et 5,3	Sucre (Lactose)	massif
4,80	Résiduel H_2O	

Les résultats des intégrations sont donnés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Intégration des signaux de la solution d'oxaliplatine à 10 mg/mL

	Sol. Commerciale T0	Sol. Commerciale T=24h	Flacons Crystal® T=24h (n=3)	Différence avec la Sol. Commerciale à T=24h (%)
1,16 et 1,31 ppm (4 CH)	48,99	50,14	50,74 \pm 0,42	1,19%
1,58 ppm (2 CH)	23,73	24,11	24,25 \pm 0,30	0,57%
2,07 ppm (2 CH)	23,69	24,10	24,30 \pm 0,29	0,82%
2,37 ppm (2 CH)	24,62	25,06	25,20 \pm 0,35	0,56%

Les différences d'intégration au bout de 24 heures entre les flacons Crystal® et la solution commerciale d'oxaliplatine sont inférieures à 1,19%, les concentrations sont considérées identiques. La solution est stable pendant 24 heures.

- *Solution de cisplatine*

A l'inverse de la solution d'oxaliplatine et de carboplatine, l'attribution des protons n'est pas présentée puisque cette molécule ne possède que des protons mobiles présents sur les groupements NH_3 .

L'intégration est présentée dans le tableau 11 et montre une diminution des protons mobiles au bout de 24 heures, néanmoins, les intégrations à partir des protons mobiles (NH_3), les seuls disponibles, sont moins précises car le signal est plus large et proche de celui de l'eau rendant difficile l'interprétation.

Tableau 11 : Intégration des signaux de la solution de cisplatine à 1 mg/mL

	Sol. Commerciale T0	Sol. Commerciale T=24h	Flacons Crystal® T=24h (n=3)	Différence avec la Sol. Commerciale à T=24h (%)
4,08 ppm (2 NH ₃)	17,87	17,39	15,29 ± 1,22	-12,10%

1.2.4. Discussion

Nous pouvons donc conclure à l'absence d'interactions pouvant conduire à une perte de principe actif (de type adsorption) pour les solutions de carboplatine et d'oxaliplatine. Pour ces 2 produits, l'intégration a été réalisée sur les protons non mobiles des chaînes carbonées (CH₂ et CH).

Concernant la solution de cisplatine, il est difficile de conclure à une diminution de la concentration en cisplatine au regard de la technique d'analyse utilisée reposant sur l'étude des protons mobiles.

La littérature va d'ailleurs dans le sens de ces résultats car ce sont des molécules stables au moins 14 jours, même pour des solutions fortement diluées et conditionnées dans des poches en PVC (132–134). Aucune étude ne montre l'impact du conditionnement sur la stabilité de ces molécules peu ou faiblement lipophiles (Log P calculés de 0,046, 0,885 et 1,105 respectivement pour le cisplatine, l'oxaliplatine et le carboplatine). A l'inverse, la présence d'ions chlorures est reconnu comme diminuant la stabilité des dérivés du platine d'où l'importance de favoriser la dilution dans le glucose 5% plutôt que dans le NaCl 0,9%.

En dehors des données de stabilité, cette étude a permis de confirmer l'intérêt de la RMN pour le dosage des cytotoxiques présentant des protons non mobiles. Cette technique est très spécifique puisqu'elle analyse directement la structure chimique des molécules, mais elle est souvent qualifiée de peu sensible. Il ne s'agit pas d'une limite dans notre cas car l'étude de stabilité était réalisée sur des solutions commerciales concentrées. Aucune dilution n'a été nécessaire dans cette étude, il s'agit d'un point véritablement positif pour la précision du dosage mais surtout pour limiter la manipulation des molécules cytotoxiques et donc l'exposition possible du personnel.

1.3. Synthèse des risques de sorption

La première étude sur 3 mois portant sur les 8 molécules cytotoxiques (méthotrexate, gemcitabine, ifosfamide, étoposide, épirubicine, paclitaxel, irinotécan et vincristine) a permis de démontrer l'absence de risque d'interaction de type sorption pouvant conduire à une baisse de concentration, même pour les molécules les plus lipophiles. Cela est confirmé par l'absence de corrélation à J62 entre la concentration et la lipophilie de la molécule.

Concernant le dosage par RMN des 3 molécules dérivés du platine, la courte durée d'analyse (24h) limite les interprétations possibles sur le risque d'interaction. Il est tout de même important de rappeler que les phénomènes de sorption sont souvent des interactions à court terme, quasi immédiates. Pour preuve, de nombreuses études ont démontré ces phénomènes lors des étapes d'administration directement sur les dispositifs d'injection et de perfusion (77,88,135–138) et non pas lors du conditionnement.

Néanmoins, cette étude permet de montrer les possibilités offertes par la RMN, notamment pour les molécules présentant des protons non mobiles, puisqu'il est possible de doser directement sans dilution préalable ce qui, en diminuant les manipulations, limite l'exposition aux agents cytotoxiques.

Le risque de phénomène de sorption étant démontré comme faible pour le corps en COC et pour le bouchon, nous nous sommes alors intéressés dans une deuxième partie aux risques de perméation.

2. Risque de perméation

Nous avons vu précédemment que les élastomères peuvent être sujets aux phénomènes d'absorption et de perméation des conservateurs phénoliques (58–62). Des études démontrent aussi que ce phénomène existe lors du conditionnement en seringues en PP (139).

Nous avons voulu évaluer ce risque en utilisant le cas pratique de la préparation d'une solution d'insuline à 1UI/mL qui renferme du métacrésol et du phénol comme conservateurs. La seringue en PP a servi de conditionnement de référence afin de permettre des comparaisons.

La solution d'insuline à 1UI/mL étant fréquemment utilisée dans les services de soins intensifs pour le contrôle glycémique du patient, ce travail permettait en plus d'anticiper le développement de préparations prêtes à l'emploi d'insuline en flacon Crystal[®] dans le cadre d'une unité CIVAS.

2.1. Evolution des dosages sur 50 jours de la concentration en phénol et en métacrésol d'une solution à 1UI/mL d'insuline (Novorapid[®]) conservée en flacon Crystal[®] par chromatographie liquide couplée à la spectrophotométrie UV comparé à des seringues en polypropylène

2.1.1. Introduction

Nous avons étudié pendant 50 jours l'évolution de la concentration en phénol (0,017 mg/mL) et en métacrésol (0,015 mg/mL) d'une solution d'analogue d'insuline humaine (Insuline Asparte, Novorapid[®]) diluée à 1UI/mL, dans des flacons Crystal[®] et dans des seringues en PP de 10mL lors de la conservation à 25°C avec 60% d'humidité relative (RH : Relative Humidity) et à 5°C.

2.1.2. Matériels et méthodes

2.1.2.1. Dosage par HPLC/UV

Le dosage de l'insuline et de ses conservateurs (phénol et du métacrésol) a été réalisé selon une méthode d'Ultra Fast HPLC (High Performance Liquid Chromatography) associée à une détection UV.

Les conditions retenues sont :

- Phase stationnaire : Colonne C18 Kinetex 2,6µm 150 x 4,6 mm (Phenomenex)
- Phase mobile : 57/43 (A/B, mode isocratique)
 - Phase A : 7,7% acétonitrile HiPerSolv Chromanorm (VWR International, Fontenay-sous-Bois, France) / 2,8 % sulfate de sodium anhydre (Merck, Darmstadt, Allemagne)/ 89,5% eau ultrapure (w/w) + acide o-phosphorique qs pH=3,6.
 - Phase B : 42,8% acétonitrile HiPerSolv Chromanorm (VWR International, Fontenay-sous-Bois, France) / 57,2% eau ultrapure (w/w).
- Débit : 1 mL/min
- Volume d'injection : 20 µL
- Système d'Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC) Agilent 1290 Infinity LC
- Détection à 214 nm

Pour valider la sélectivité de notre méthode « indicatrice de stabilité » une dégradation forcée a été conduite. La dégradation forcée et la validation de la gamme de dosage (0,7 à 1,2 UI/mL d'insuline) ont été réalisées selon les recommandations SFPC/GERPAC (140) (Société Française de Pharmacie Clinique/Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée).

La technique développée permet un dosage direct de la solution sans dilution préalable.

2.1.2.2. Préparation et remplissage dans les flacons Crystal[®] et les seringues de la solution d'insuline à 1UI/mL

Une solution dosée à 1 UI/mL d'insuline et contenant 0,015 mg/mL de métacrésol et 0,017 mg/mL de phénol a été préparée directement en poche de 2 L (MacoPharma) de NaCl 0,9% à partir de 2 ampoules de 10 mL d'insuline asparte dosées à 100 UI/mL (Novorapid, Novo Nordisk).

Les seringues Luer-Lock de 10mL en polypropylène (PP) (Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France) ont été remplies manuellement à l'aide d'un dispositif PCHIMX® (Doran International, Toussieu, France) connecté à la poche, permettant le prélèvement sans aiguille, puis fermés à l'aide d'un bouchon Luer-Lock.

Les flacons Crystal® de 10mL ont été remplis et les bouchons re-fusionnés à l'aide de la station M1 Filling Station (Gembloux, Belgique) connectée à une pompe péristaltique (Pompe Flexicon PF6, Watson Marlow, La Queue Lez Yvelines, France).

2.1.2.3. Conditions de l'étude de stabilité

En accord avec les recommandations de la SFPC/GERPAC (140) et celles de l'International Conference on Harmonisation (ICH) (141), deux conditions de conservation (température et humidité) ont été testées sur une durée de 50 jours :

- $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$
- $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ à $60\% \pm 5\% \text{ RH}$

Lors de la conservation à $+25^{\circ}\text{C}/60\% \text{ RH}$, une détermination de la concentration était immédiatement réalisée après le remplissage ($t=0,1$ jour, soit 2,4 heures) afin de s'assurer de l'absence d'interactions immédiates.

Pour attester de l'impact possible du bouchon sur la stabilité, la moitié des flacons étaient stockés retournés assurant un contact bouchon/solution, alors que l'autre moitié des flacons étaient stockés droits.

A chaque temps d'analyse, la concentration en insuline, en métacrésol et en phénol a été déterminée dans 3 flacons droits, 3 flacons retournés et 3 seringues. Les concentrations ont été exprimées comme le ratio en % entre la concentration

déterminée le jour d'analyse et la concentration initiale (C_t/C_0 , %). La limite de stabilité était fixée à 90%.

2.1.3. Résultats

2.1.3.1. Validation de la méthode de dosage par HPLC/UV

Le chromatogramme obtenu est présenté en figure 43.

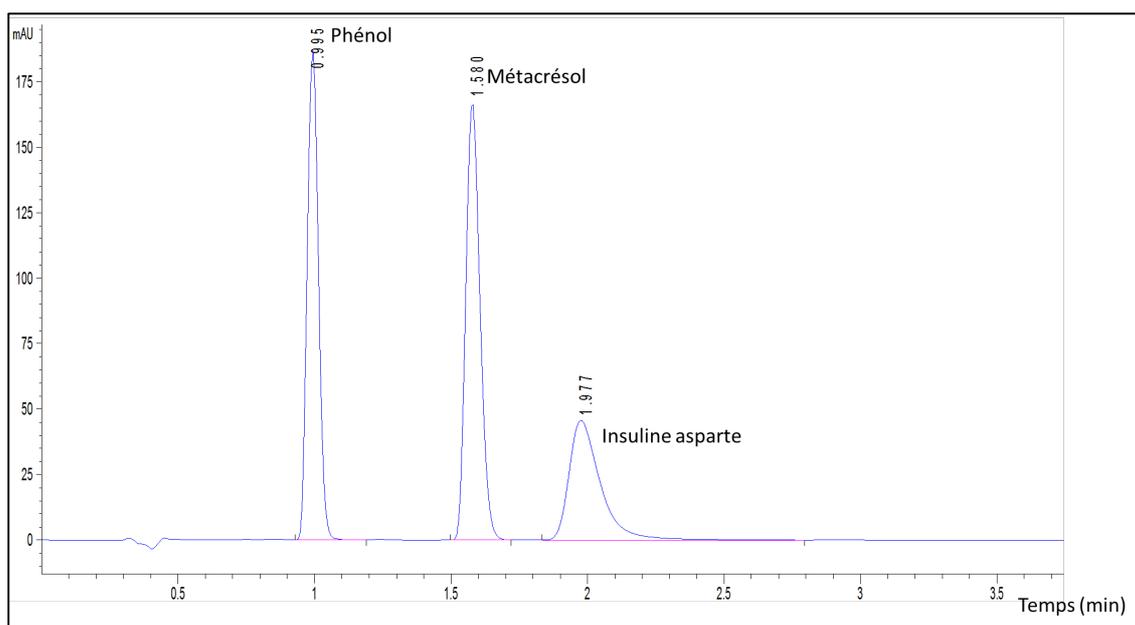


Figure 43 : Chromatogramme d'une solution d'insuline (1UI/mL, $t_r=1,97$ min), de phénol (0,017 mg/mL, $t_r=0,99$ min) et de métacrésol (0,015 mg/mL, $t_r=1,58$ min)

Les résultats de la validation analytique de la méthode sont résumés dans les tableaux 12, 13 et 14. Pour l'ensemble des points de gamme, l'erreur totale est au maximum de 3,73%, 2,62% et 2,61% respectivement pour l'insuline, le phénol et le métacrésol.

Tableau 12 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage de l'insuline

Concentration (UI/mL)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
0,6	0,22%	3,51%	3,73%
0,8	-0,05%	2,09%	2,14%
1	-0,89%	1,41%	2,29%
1,2	-0,61%	1,10%	1,71%
1,4	-0,72%	1,76%	2,48%

Tableau 13 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage du phénol

Concentration (mg/mL)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
0,009	-1,37%	1,25%	2,62%
0,012	-0,72%	0,68%	1,40%
0,015	-0,88%	0,78%	1,66%
0,018	-0,91%	0,50%	1,41%
0,021	-0,92%	0,48%	1,40%

Tableau 14 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage du métacrésol

Concentration (mg/mL)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
0,010	-1,44%	1,17%	2,61%
0,013	-0,77%	0,72%	1,49%
0,017	-0,84%	0,80%	1,64%
0,020	-0,91%	0,59%	1,50%
0,024	-0,95%	0,64%	1,59%

2.1.3.2. Stabilité de l'insuline

Les résultats des différents dosages sont présentés dans les tableaux 15 et 16 (5°C et 25°C/60% RH) et résumés dans la figure 44.

Tableau 15 : Evolution de la concentration en insuline lors de la conservation à 5°C (n=3)

Temps (jours)	Crystal® 10mL stockage droit		Crystal® 10mL stockage retourné		Seringues PP 10mL	
	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)
0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
1,5	99,2	0,4	95,0	1,4	100,4	0,8
7	96,8	1,3	96,2	0,7	100,3	0,4
10	97,0	1,0	97,7	1,1	99,3	0,6
50	97,1	0,4	96,5	0,5	100,6	0,2

La conservation à 5°C permet de garantir une concentration d'insuline > 95% dans toutes les conditions.

Tableau 16 : Evolution de la concentration en insuline lors de la conservation à 25°C/60%RH (n=3)

Temps (jours)	Crystal® 10mL stockage droit		Crystal® 10mL stockage retourné		Seringues PP 10mL	
	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)
0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
0,1	96,9	0,9	96,9	0,9	98,5	3,9
1	97,5	1,7	96,2	1,2	99,9	2,5
4	98,3	1,2	97,6	1,0	97,2	2,7
10	96,7	0,9	96,2	1,3	98,7	0,5
50	87,6	2,3	87,9	1,1	89,8	0,8

A 25°C/60%RH, la concentration en insuline diminue progressivement pour passer en-dessous de la limite des 90% (écart-type compris) à J50 pour les 2 types de conditionnement (respectivement 87,6±2,3%, 87,9±1,1% et 89,8±0,8% pour les flacons conservés droits, retournés et les seringues).

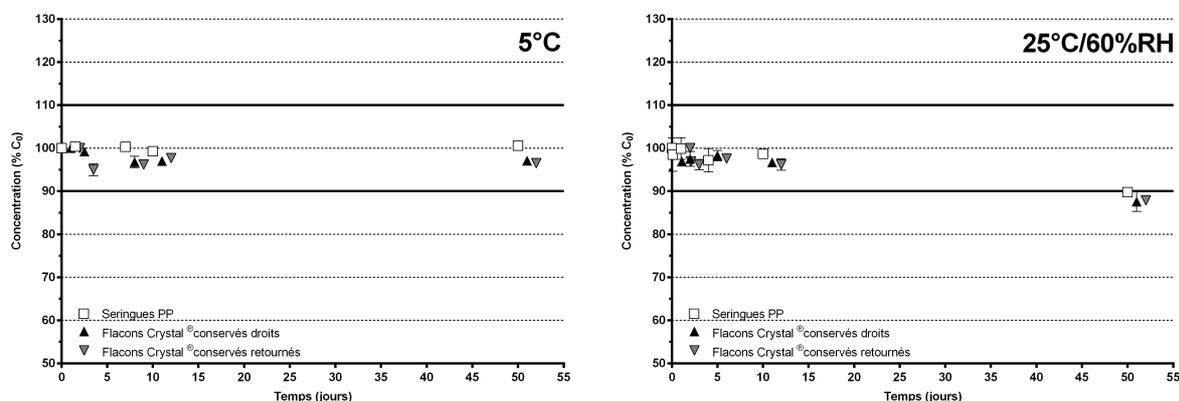


Figure 44 : Résultats des études de stabilité de l'insuline en flacons Crystal® et en seringues en PP

2.1.3.3. Stabilité du phénol

Les résultats des différents dosages du phénol sont présentés dans les tableaux 17 et 18 (5°C et 25°C/60% RH) et résumés dans la figure 45.

Tableau 17 : Evolution de la concentration en phénol lors de la conservation à 5°C (n=3)

Temps (jours)	Crystal® 10mL stockage droit		Crystal® 10mL stockage retourné		Seringues PP 10mL	
	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)
0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
1,5	99,6	0,0	99,6	0,0	99,6	0,0
7	99,1	0,4	98,9	0,0	99,3	0,4
10	98,9	0,0	98,9	0,0	99,1	0,4
50	97,8	0,1	97,7	0,1	97,5	0,2

A 5°C et à J50, la concentration en phénol est supérieure à 95% de la concentration initiale pour tous les conditionnements.

Tableau 18 : Evolution de la concentration en phénol lors de la conservation à 25°C/60%RH (n=3)

Temps (jours)	Crystal® 10mL stockage droit		Crystal® 10mL stockage retourné		Seringues PP 10mL	
	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)
0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
0,1	99,6	0,0	99,6	0,0	99,6	0,0
1	99,6	0,0	99,3	0,4	98,9	0,0
4	98,2	0,0	98,4	0,4	98,2	0,0
10	95,5	2,9	97,6	0,0	82,0	0,8
50	85,9	10,0	93,0	0,1	53,1	5,0

A 25°C/60%RH, en ce qui concerne les flacons, on note une baisse de concentrations et d'importantes variations dans le dosage du phénol, notamment à J50 pour les flacons stockés droits (85,9±10,0%).

En ce qui concerne les seringues, la diminution de la concentration en phénol est liée au temps de conservation. Cette diminution est importante dès le J10 et elle s'accroît à J50. Les dosages sont cependant moins variables. A J50, la perte est plus importante que dans les flacons (53,1±5,0%).

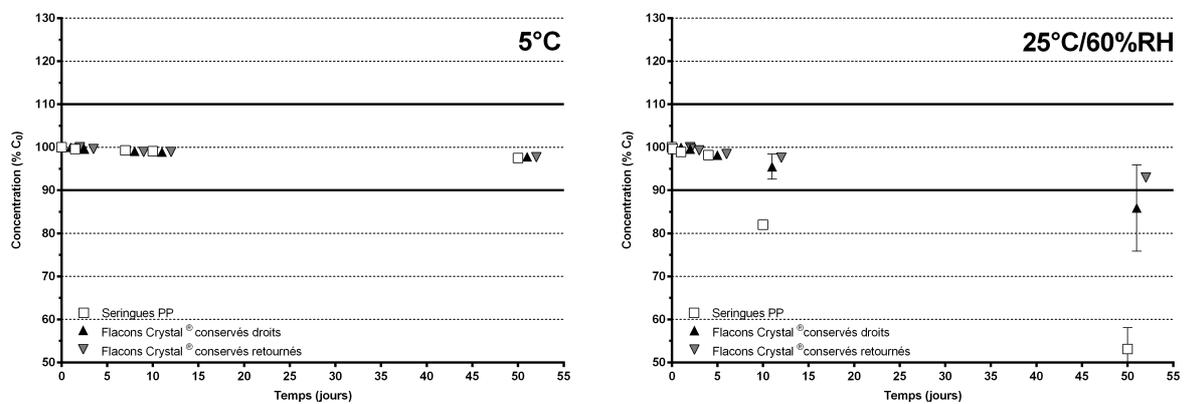


Figure 45 : Résultats des études de stabilité du phénol en flacons Crystal® et en seringues en PP

2.1.3.4. Stabilité du métacrésol

Les résultats des différents dosages du métacrésol sont présentés dans les tableaux 19 et 20 (5°C et 25°C/60% RH) et résumés dans la figure 46.

Tableau 19 : Evolution de la concentration en métacrésol lors de la conservation à 5°C (n=3)

Temps (jours)	Crystal® 10mL stockage droit		Crystal® 10mL stockage retourné		Seringues PP 10mL	
	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)
0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
1,5	99,0	0,0	98,4	0,0	99,0	0,0
7	98,3	0,3	97,1	0,3	97,9	0,0
10	97,9	0,0	96,5	0,3	97,3	0,0
50	94,4	0,2	92,3	0,4	93,1	0,1

Contrairement aux résultats précédents sur les dosages du phénol, la conservation à 5°C ne permet pas de maintenir une concentration > 95% dans toutes les conditions. A J50, une perte est observable dans les flacons qu'ils soient conservés droits ou retournés et dans les seringues (respectivement 94,4±0,2% et 92,3±0,4% et 93,1±0,1%).

Tableau 20 : Evolution de la concentration en métacrésol lors de la conservation à 25°C/60%RH (n=3)

Temps (jours)	Crystal® 10mL stockage droit		Crystal® 10mL stockage retourné		Seringues PP 10mL	
	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)
0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
0,1	99,4	0,3	99,4	0,3	99,6	0,0
1	98,4	0,0	97,3	0,0	97,9	0,0
4	96,7	0,0	94,9	0,0	94,6	0,3
10	93,6	0,3	92,0	0,0	91,3	0,3
50	80,8	0,3	79,7	0,3	83,2	0,6

A 25°C/60%RH, les pertes en métacrésol sont encore plus élevées. On retrouve des pertes importantes pour les flacons (80,8±0,3% et 79,7±0,3% respectivement pour les flacons droits ou retournés) et pour les seringues (83,2±0,6%).

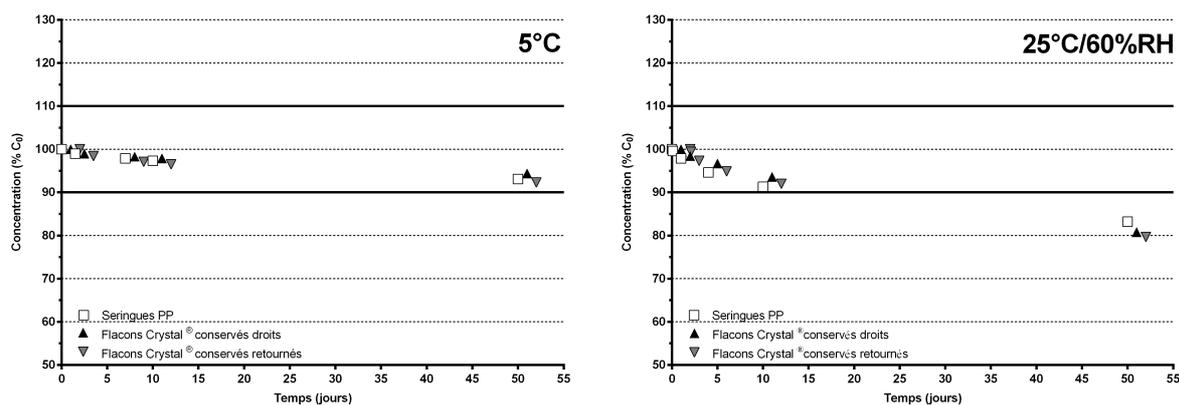


Figure 46 : Résultats des études de stabilité du métacrésol en flacons Crystal® et en seringues en PP

2.1.4. Discussion

Ce travail avait pour objectif d'étudier les phénomènes de migration des conservateurs phénoliques à travers le flacon Crystal® (corps et bouchon). Pour cela, la stabilité d'une solution d'insuline asparte à 1UI/mL, obtenue par dilution de la forme injectable commerciale Novorapid® et contenant 0,015 mg/mL de métacrésol et 0,017 mg/mL de phénol, a été évaluée.

Concernant l'insuline, les résultats obtenus confirment les données de la littérature à savoir une stabilité à 5°C sur les 50 jours de l'étude pour les 2 types de conditionnements et sans impact du contact avec le bouchon. En 2011, dans une étude à plus long terme, Fleury Souverain et *al.* (142) démontrent une stabilité de 180 jours pour une solution d'insuline à 1UI/mL (Actrapid®) conditionnée en seringue en PP de 50mL lors d'une conservation à 5°C.

En revanche, à 25°C/60%RH, la solution n'est plus stable à J50 (respectivement $87,6 \pm 2,3\%$; $87,9 \pm 1,1\%$ et $89,8 \pm 0,8\%$ pour les flacons Crystal® conservés droits, les flacons Crystal® conservés retournés et les seringues en PP). En interpolant les courbes de tendances, les dates de fin de stabilité, selon notre limite de 90%, sont estimées à J39 pour les flacons Crystal® (droits et retournés) et J49 pour les seringues.

Concernant les conservateurs phénoliques, on observe une diminution du métacrésol lors de la conservation en flacons Crystal® ($80,8 \pm 0,3\%$ et $79,7 \pm 0,3\%$ de métacrésol à J50 respectivement pour les flacons conservés droits et retournés à 25°C/60%RH). Le

phénol semble moins sujet au phénomène (respectivement $85,9\pm 10,0\%$ et $93\pm 0,1\%$ pour les flacons conservés droits et retournés à $25^{\circ}\text{C}/60\%\text{RH}$).

Cette diminution est aussi retrouvée lors du conditionnement en seringue en polypropylène pour le métacrésol ($83,2\pm 0,6\%$ à J50 lors de la conservation à $25^{\circ}\text{C}/60\%\text{RH}$) et est nettement plus importante pour le phénol ($53,1\pm 5,0\%$).

La position du flacon n'impacte pas la perte en métacrésol, cela ne permet donc pas d'être discriminant sur le matériau responsable. La perte en métacrésol peut donc être due aussi bien au corps qu'au bouchon du flacon.

Sur le fond, cela met en évidence l'importance que peut avoir le suivi de ces excipients lors des études de stabilité réalisées pour la production en unité CIVAS. Ces conservateurs ont un rôle essentiel, même à faible concentration, dans la stabilisation de l'insuline sous sa forme hexamérique, qui est la forme la plus stable en solution (143).

Dans les études déjà publiées, ces résultats sont malheureusement souvent manquants, ainsi Fleury Souverain et *al.* ne présentent pas de données sur ces molécules alors que la méthode analytique utilisée permet le dosage de ces conservateurs (142) comme le montre leur chromatogramme. En pratique, il est essentiel lors de la réalisation d'études de stabilités de solutions conditionnées en flacons et en seringues et contenant des excipients ayant des caractéristiques de lipophilie et de volatilité proche de ces conservateurs phénoliques de suivre les concentrations afin de ne pas sur-estimer la stabilité de la préparation.

Dans un rapport interne, Aseptic Technologies avait déjà mis en évidence des phénomènes de perméation de leur flacon Crystal[®] sur une molécule similaire, le 2-methoxy-phenol (figure 47) de structure proche du phénol et du métacrésol et ayant des caractéristiques de lipophilie similaire.

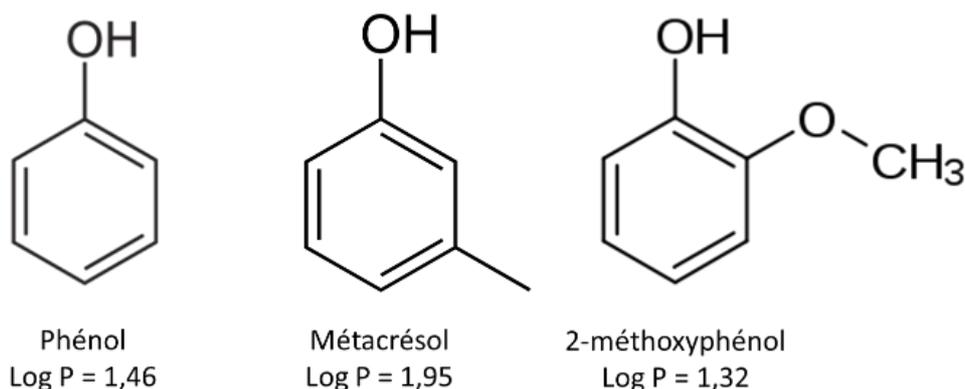


Figure 47 : Structure moléculaire et coefficient de partage octanol/eau du phénol, du métacrésol et du 2-méthoxyphénol

Ils avaient en effet démontré, après remplissage de flacons par une solution de 2-méthoxyphénol et stockage à proximité d'un béccher d'eau à température ambiante, que le produit était quantifiable dans l'eau à l'extérieur des flacons. Malheureusement, de part la méthodologie utilisée, il n'était pas possible de discriminer clairement la partie / le matériau en cause (bouchon élastomérique ou corps en COC). Cependant, les données recueillies sur la composition du bouchon en élastomère (forte proportion d'huile de paraffine pouvant servir de vecteur et favoriser le passage des dérivés phénoliques) ont rapidement permis d'incriminer le bouchon.

Pour confirmer notre hypothèse, Aseptic Technologies a travaillé sur la formulation de nouveaux bouchons caractérisés par la faible présence d'huile. Nous avons donc entrepris une nouvelle étude et pour ce travail, nous nous sommes focalisés sur le métacrésol qui était l'élément le plus sensible au phénomène.

2.2. Influence du type de bouchon utilisé sur la stabilité à 50 jours et à 25°C/60%RH du métacrésol conditionné dans des flacons en verre de 10mL

2.2.1. Introduction

Des études de stabilité, sur 50 jours, ont été réalisées sur des flacons en verre blanc de type I de 10 mL obturés par 3 types de bouchons de composition différente : 2 types de bouchons ont été fournis par Aseptic Technologies, dénommés bouchons standards « verts » pour l'un, et nouveaux bouchons « gris » pour l'autre, qui seront

comparés avec les bouchons en élastomère (bromobutyle) délivrés de manière classique avec ces flacons en verre.

La composition des nouveaux bouchons gris, encore à l'état de prototype, ne nous a pas été communiquée. Concernant les bouchons standards, on retrouve la présence d'huile de paraffine, de polypropylène et d'élastomère de styrène-éthylène/butylène-styrène (SEBS).

2.2.2. Matériels et méthodes

2.2.2.1. Préparation et remplissage dans les flacons en verre de la solution à 0,015 mg/mL de métacrésol

Les étapes de préparation et de remplissage ont été réalisées en zone à atmosphère contrôlée de classe A (Hotte à flux laminaire MaxiSafe 2020, Thermo Scientific, Saint Herblain, France). La reconstitution de la solution de métacrésol à partir du principe actif pur a été réalisée de façon à garder une concentration équivalente à celle présente dans la solution commerciale de Novorapid diluée pour une concentration d'insuline à 1UI/mL, soit 0,015 mg/mL.

Les flacons de 10 mL ont été remplis et refermés avec les différents types de bouchons par sertissage manuel à l'aide d'une pince prévue à cet effet.

2.2.2.2. Conditions de l'étude de stabilité

Les flacons ont été conservés droits pour confirmer l'hypothèse d'un passage du métacrésol sous forme de gaz (molécule volatile) au travers du bouchon. En accord avec les résultats précédents, et pour permettre d'observer une éventuelle différence entre les bouchons, seule la conservation à $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $60\% \pm 5\%$ RH a été retenue, à 5°C la perte en métacrésol étant jugée trop faible pour espérer visualiser une différence significative.

A chaque temps d'analyse (J0, J10, J20 et J50), la concentration en métacrésol a été déterminée dans les différentes conditions : 6 flacons en verre avec les bouchons standards verts AT, 6 flacons en verre avec les nouveaux bouchons gris AT, 6 flacons

en verre avec les bouchons commerciaux en bromobutyle (Aptar Stelmi, Granville, France). La concentration en métacrésol a été exprimée comme le ratio en % entre la concentration déterminée le jour d'analyse et la concentration initiale (C_t/C_0 , %).

2.2.2.3. Dosage par HPLC/UV

Le dosage du métacrésol a été réalisé par la technique de Ultra Fast HPLC (High Performance Liquid Chromatography) associée à une détection UV précédemment décrite.

2.2.3. Résultats

Les résultats des dosages en métacrésol sont résumés dans le tableau 21, une représentation graphique est donnée sur la figure 48.

Les résultats mettent en évidence deux types de profils de stabilité différents.

D'un côté les flacons avec les bouchons commerciaux et les nouveaux bouchons gris, dans lesquels la concentration à J50 est supérieure à 97% par rapport à J0 et, de l'autre, les flacons avec les bouchons standards verts dans lesquels la concentration est inférieure à 90% par rapport à J0.

Après une conservation de 50 jours, la différence entre les 2 types de bouchons provenant d'AT est significative (88,22 vs 97,38 ; $p < 0,25\%$). Le corps des flacons en verre n'étant pas perméable, ces résultats mettent clairement en évidence l'impact de la formulation du bouchon sur la perméabilité au métacrésol avec un net avantage pour le nouveau bouchon gris.

Tableau 21 : Evolution de la concentration en métacresol lors de la conservation à 25°C/60%RH (n=6 pour chaque condition)

Temps (Jour)	Bouchons commerciaux		Nouveaux bouchons gris		Bouchons standards verts	
	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)	Moyenne (%)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
10	98,96	0,07	98,80	0,07	95,80	0,06
20	98,64	0,07	98,39	0,12	93,58	0,12
50	97,88	0,13	97,38	0,16	88,22	0,13

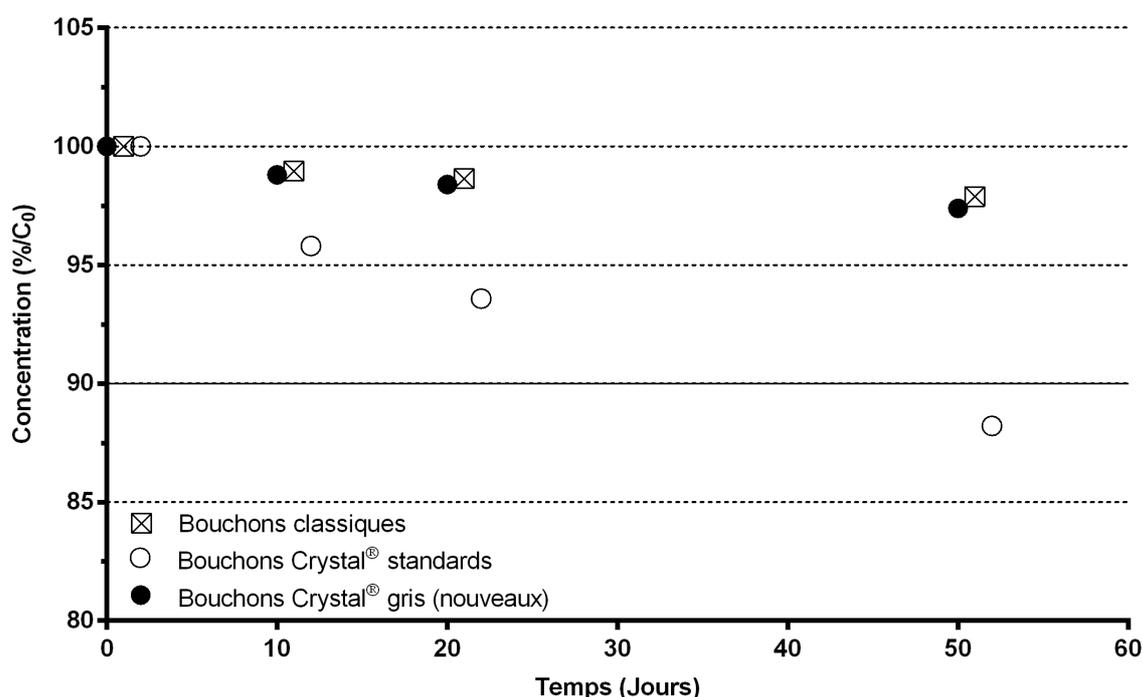


Figure 48 : Concentration en métacresol dans des flacons en verre fermés par différents types de bouchons sur 50 jours (moyenne sur n=6, les écart-types sont intégrés mais trop faibles pour être visibles)

2.2.4. Discussion

Cette étude a mis en évidence que la diminution de concentration en métacresol était dépendante de la composition du bouchon. L'hypothèse est qu'il y a une quantité trop importante d'huile de paraffine entrant dans la composition du bouchon standard servant de vecteur à la sortie des dérivés phénoliques lipophiles et volatiles. En effet, après une étape de vaporisation dans le flacon, ces dérivés se solubiliseront dans

l'huile contenue dans le bouchon, puis, en contact avec l'air, se vaporiseraient à nouveau.

Le nouveau bouchon gris fourni par AT permet une amélioration sensible en ce qui concerne la diminution du métacrésol au cours du temps à une température de 25°C / 60%RH (97,38% vs 88,22% respectivement pour le nouveau bouchon gris et pour le bouchon standard vert).

2.3. Synthèse des risques de perméation

Les études réalisées sur les conservateurs phénoliques de l'insuline (métacrésol et phénol) ont permis de démontrer un risque de perméation de ces molécules lors de l'utilisation du flacon Crystal®.

En pratique, cela oblige à être vigilant lors de l'utilisation de la technologie Crystal® pour le conditionnement de formulations présentant des conservateurs phénoliques (phénol et métacrésol) puisque nous savons désormais que la concentration de ces produits dans le temps va avoir tendance à diminuer surtout lors de la conservation à température ambiante.

Le phénomène est lié au bouchon mais ne nécessite pas de contact direct avec celui-ci (caractère volatile des dérivés phénoliques). Les résultats sont en effet équivalents lors des études avec les flacons conservés droits et retournés.

En collaboration avec l'industriel, la synthèse d'un nouveau bouchon a été réalisée, celui-ci contient moins d'huile de paraffine et pourrait donc limiter la diminution de concentration des conservateurs. Nous n'avons cependant pas pu avoir connaissance de la composition exacte (secret de fabrication) de ces 2 types de bouchons.

Les résultats obtenus sur ce nouveau bouchon sont largement encourageants (97,38% vs 88,22% de métacrésol à J50 respectivement pour le nouveau bouchon gris et le bouchon standard vert après une conservation à 25°C/60%RH) et permettent d'envisager la réalisation d'étude de stabilité d'une solution à 1UI/mL d'insuline à plus long terme, surtout que les premiers résultats obtenus laissent supposer une stabilité identique à la seringue en PP lors de la conservation dans des flacons Crystal®.

3. Risque de contamination particulaire

La présence de particules doit être faible et contrôlée pour pouvoir satisfaire les critères de la Pharmacopée Européenne et le caractère injectable de la préparation.

Le conditionnement peut être source d'une contamination particulaire, soit directement à cause des matériaux eux-même (les composés élastomériques, les différents polymères plastiques ou le verre peuvent naturellement être sources de particules) (144), soit suite à l'interaction entre le contenant et le contenu ; l'exemple le plus connu étant évidemment la délamination du verre en milieu basique. La solutions basique favorise la dissolution de la silice et provoque la libération de particules dans la solution (45). Cette délamination du verre est d'ailleurs responsable de rappels de lots et a fait l'objet d'une alerte aux industries pharmaceutiques par la Food and Drug Administration (FDA) (42).

Le risque, lors du conditionnement de telles solutions, est l'éventuelle dégradation du matériau formant le corps du flacon ou le bouchon et ainsi induire l'apparition de particules pouvant être délétères pour le patient.

Dans ce contexte, l'utilisation de flacons plastiques tel que le flacon Crystal[®], souvent source de moins de particules, peut être une alternative au verre et donc une possible solution aux problèmes de délamination (145).

Dans un premier temps, nous avons dans évalué le risque de contamination en fonction du pH en étudiant la contamination particulaire de différentes solutions conditionnées en flacons Crystal[®] selon la méthodologie classique de dénombrement de particules non visibles de la monographie 2.9.19 de la Pharmacopée Européenne (annexe 1) (4). Puis, dans un deuxième temps, nous avons utilisé un nouveau système de caractérisation de particules par acquisition à haute fréquence et analyse d'images.

3.1. Impact du pH sur la contamination particulaire

3.1.1. Introduction

Les solutions destinées à être injectées au patient peuvent avoir des pH éloignés de la neutralité. Ainsi, les solutions d'amines vaso-actives peuvent avoir des pH très acides pouvant descendre à pH=2,5 pour une solution à 4mg/mL de Dobutamine (146). A l'opposé, une solution d'Aciclovir reconstituée à 50mg/mL a un pH=11 avant dilution (146). Dans le cadre de notre étude, nous avons ainsi décidé de simuler la présence de médicaments dans des cas extrêmes de pH en utilisant des solutions de pH 2 (acide chlorhydrique dilué, HCl 0,01N) et pH 12 (Hydroxyde de Sodium dilué, NaOH 0,01N).

3.1.2. Matériels et méthodes

Pour évaluer le relargage particulaire provenant de la dégradation des conditionnements, des flacons en verre type I (GRAVIS, Trélazé, France) et des flacons Crystal[®] de 20mL ont été remplis avec une solution d'HCl 0,01N, d'eau pour préparations injectables (EPI) et de NaOH 0,01N. Pour chaque solution, 4 flacons en verre et 6 flacons Crystal[®] ont été remplis.

Un comptage particulaire a été réalisé à J0 dans 2 flacons en verre et 2 flacons Crystal[®].

Après stockage en enceinte climatique [25°C et 60% d'humidité résiduelle (RH)], la contamination particulaire de 2 flacons Crystal[®] conservés droits, 2 flacons Crystal[®] conservés retournés et 2 flacons en verre ainsi que le pH étaient mesurés à J7.

Le comptage a été effectué selon la méthode décrite dans la monographie 2.9.19 de la Pharmacopée Européenne (4), à l'aide d'un système APSS 2000 (Particle Measuring System, Boulder, Etats Unis).

Selon cette monographie (essai 1B, récipients de contenance nominale inférieure à 100mL), la totalité de la solution contenue dans un récipient doit contenir, au plus,

6000 particules d'une taille supérieure ou égale à 10 µm et au plus 600 particules d'une taille supérieure ou égale à 25 µm.

A chaque temps, un blanc sur de l'eau pour préparations injectables est effectué en respectant le même protocole opératoire afin de s'assurer que le matériel utilisé, y compris l'éprouvette graduée lavée et rincée à l'eau exempte de particules, n'interférerait pas avec le comptage particulaire.

3.1.3. Résultats

Les résultats des comptages particulaires sont synthétisés dans les tableaux 22, 23 et 24 respectivement pour l'eau pour préparations injectables, la solution acide et la solution basique.

En l'absence de contact avec le bouchon, les flacons retournés ne sont pas évalués à J0.

Tableau 22 : Résultats de contamination particulaire lors de la conservation dans de l'EPPI

Eau pour préparations injectables	Particules ≥ 10 µm		Particules ≥ 25 µm	
	J0	J7	J0	J7
Flacons en verre	37 ± 5	30 ± 6	2 ± 1	2 ± 1
Flacons conservé droits	35 ± 4	56 ± 10	4 ± 2	3 ± 2
Flacons conservés retournés	Non effectué	50 ± 7	Non effectué	3 ± 4

Tableau 23 : Résultats de la contamination particulaire lors de la conservation dans de l'HCl 0,01N

Solution pH = 2	Particules ≥ 10 µm		Particules ≥ 25 µm	
	J0	J7	J0	J7
Flacons en verre	27 ± 3	18 ± 3	1 ± 1	1 ± 0
Flacons conservé droits	33 ± 8	19 ± 2	1 ± 1	1 ± 1
Flacons conservés retournés	Non effectué	34 ± 2	Non effectué	1 ± 0

Tableau 24 : Résultats de la contamination particulaire lors de la conservation dans du NaOH 0,01N

Solution pH = 12	Particules ≥ 10 µm		Particules ≥ 25 µm	
	J0	J7	J0	J7
Flacons en verre	30 ± 6	172 ± 60	1 ± 1	9 ± 3
Flacons conservé droits	38 ± 6	37 ± 5	1 ± 1	1 ± 1
Flacons conservés retournés	Non effectué	6820 ± 25	Non effectué	32 ± 15

Après préparation, les solutions destinées à remplir les différents flacons n'étaient pas exemptes de particules mais la contamination particulaire était faible et très inférieure

aux limites fixées par la Pharmacopée Européenne applicables aux solutions destinées à la voie parentérale conditionnées en petit volume.

A J7, l'ensemble des mesures faites pour les solutions acides et neutres sont largement en dessous du seuil toléré par la Pharmacopée pour les 2 conditionnements et quelle que soit la position de conservation du flacon Crystal[®]

En revanche, lors de la conservation de la solution basique (NaOH 0,01N), le contact avec le bouchon (flacons retournés) entraîne un relargage de particules important (6820 particules de 10µm soit 184 fois le nombre de particules observées dans le flacon conservé droit).

On peut noter aussi une augmentation de la contamination particulaire dans les flacons en verre mais dans une proportion beaucoup plus faible.

3.1.4. Discussion

Cette étude a mis en évidence le risque de relargage particulaire lors de conditionnement de solutions fortement basiques.

Les conséquences d'une telle contamination particulaire pouvant être délétère pour le patient, l'utilisation du flacon Crystal[®] doit être contrôlée lors du conditionnement d'une solution basique. L'injection de particules peut en effet entraîner des phlébites, des embolies pulmonaires, des granulomes pulmonaires (144). Ce risque est évidemment lié à la taille, à la forme et à la composition des particules mais aussi au nombre de particules injectées et au type de population qui les reçoit.

L'origine de cette contamination est inconnue. La quantification du nombre de particules par un système fonctionnant par extinction de lumière ne permet pas l'obtention d'informations (taille et forme réelle) pouvant déterminer la cause de la présence de ces particules.

Des analyses optiques et thermogravimétriques sont envisagées pour déterminer la nature des particules.

3.2. Caractérisation des particules générées par analyse optique et analyse thermogravimétrique

3.2.1. Introduction

Le but de cette étude a été de caractériser les particules observables en milieu basique en utilisant 2 techniques analytiques complémentaires :

- Une analyse particulaire par un système QICPIC (Sympatec, Allemagne) qui combine un module de dispersion en milieu humide (LIXELL) ainsi qu'une caméra haute fréquence (figure 49) permettant de faire une caractérisation (taille et forme) et un dénombrement des particules.

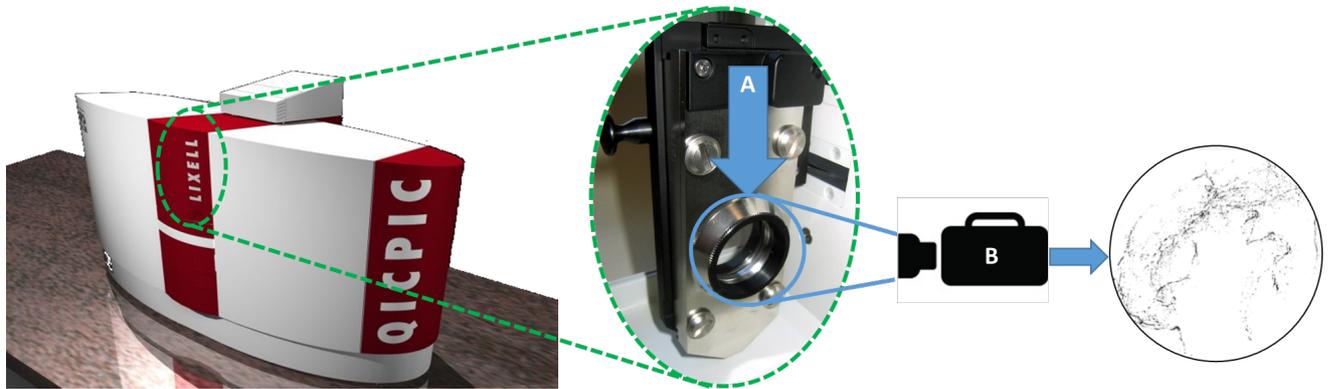


Figure 49 : Fonctionnement du système QICPIC : (A) Le flux de particules passe à travers une lentille, (B) une caméra haute fréquence enregistre le passage des particules, les images sont ensuite analysées

- Une analyse thermogravimétrique (ATG) permettant de mesurer la variation de masse d'un échantillon lors d'une augmentation croissante de la température afin d'en caractériser les différents matériaux constitutifs.

3.2.2. Matériels et méthodes

3.2.2.1. Analyse particulaire par le système QICPIC

En se basant sur les résultats de la précédente étude, une solution basique d'hydroxyde de sodium à pH 12 a été conditionnée dans le flacon Crystal[®]. Le

conditionnement d'une solution acide n'a pas été étudié puisqu'il ne conduisait pas à l'apparition de particules.

Les analyses (mesure du pH et contamination particulaire) ont été réalisées sur 2 jours d'étude :

Temps J0

- Préparation d'une solution de pH=12 par ajout de solution d'hydroxyde de sodium 10N dans de l'eau pour préparations injectables.
- Contrôle du pH de la solution avant le conditionnement (pH-mètre SB70P SympHony (VWR ; Fontenay-sous-bois, France)).
- Remplissage des flacons Crystal[®] 2mL (20 flacons avec EPPI, 20 flacons avec une solution de pH 12).
- Conservation des flacons droits et retournés à 25°C/60%RH pendant 7 jours.

Temps J7

- Séparation en 4 groupes de 10 flacons (EPPI, flacons conservés droits ; EPPI, flacons conservés retournés ; Solution pH 12, flacons conservés droits ; Solution pH 12, flacons conservés retournés)
- Recueil à la seringue Luer-Lock de 50 mL en polypropylène (PP) (Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France) des solutions mises en flacons Crystal[®] (20mL par groupe)
- Contrôle du pH (pH-mètre SB70P SympHony (VWR ; Fontenay-sous-bois, France))
- Observation macroscopique
- Analyse particulaire par le système QICPIC

Concernant l'analyse par le système QICPIC, les mesures ont été effectuées sur les 20mL de solutions disponibles pour chacun des groupes. Le flux de solution entrant dans le système était assuré par un pousse-seringue électrique Orchestra[®] (Fresenius Vial, Brezins, France) à un débit de 2mL/min.

Au niveau du système, une lentille de type M3 a été utilisée, permettant l'analyse des particules dont les tailles varient entre 0,7 et 1210 μm . La fréquence d'acquisition des images a été fixée au seuil le plus bas, soit 10 Hz. Les analyses ont été répétées 4 fois.

Pour confirmer le fait que le phénomène de contamination particulaire n'existe qu'en milieu basique, une comparaison statistique du nombre de particules (Test unilatéral de Mann-Whitney, seuil de 5%) a été effectuée entre les flacons conservés retournés contenant de l'EPPI et les flacons conservés retournés contenant la solution basique à pH 12.

De la même façon, pour confirmer l'impact du bouchon sur l'apparition de particules dans la solution basique, ce même test a été effectué entre les flacons, contenant la solution basique à pH 12, conservés droits et retournés.

3.2.2.2. *Analyse thermogravimétrique*

Pour obtenir la quantité suffisante de particules nécessaires à l'analyse thermogravimétrique (ATG), 50 grammes de bouchons Crystal[®] standards ont été immergés dans 250mL de solution de pH=12 par ajout de solution d'hydroxyde de sodium 10N dans de l'eau ultrapure.

Après 7 jours en enceinte climatique (25°C/60%RH), les 250mL de la solution à pH 12 auxquels ont été soustraits les bouchons et contenant les particules ont été centrifugés puis le culot a été recueilli et mis en suspension dans de l'eau pour préparations injectables afin de neutraliser le pH (nécessité vis-à-vis de l'étape suivante : la lyophilisation).

L'eau a été retirée de l'échantillon par une étape de lyophilisation (Alpha 1-4 LDplus, Christ, Osterode, Germany) puis l'ATG a été réalisée sur un échantillon de 7,04mg de lyophilisat.

Afin de comparer et d'identifier les matériaux caractéristiques des bouchons pouvant être retrouvés dans le précipité, une ATG a aussi été effectuée sur 8,72mg d'un bouchon Crystal[®] standard n'ayant subi aucun traitement.

Concernant les paramètres de l'analyse, l'ATG a été réalisée sur un système Q50 (TA Instruments, Brusselsesteenweg, Belgique). Le thermogramme a été enregistré de 0 à 600°C pour le bouchon (à cette température la quasi-totalité de l'échantillon avait brûlé) et de 0 à 800°C pour les particules relarguées. L'augmentation de la température se faisait à une vitesse de 10°C/min dans une atmosphère constituée uniquement d'azote.

3.2.3. Résultats et discussion

3.2.3.1. Analyse par le système QICPIC

- *Contrôle de l'évolution du pH*

Le tableau 25 regroupe les résultats des différentes mesures de pH effectuées.

Tableau 25 : Evolution du pH durant les 7 jours d'études

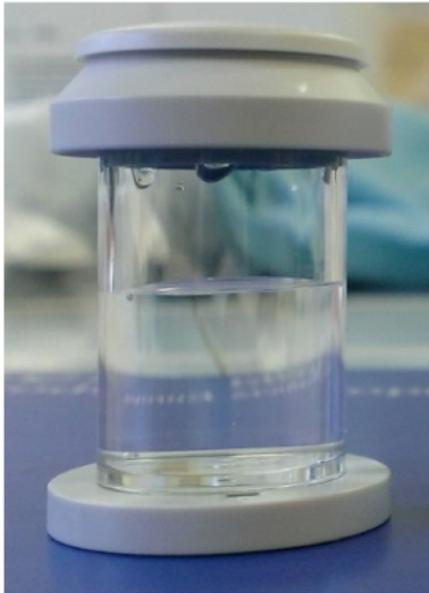
Evolution du pH	J0 Solutions en bécher	J7 Flacons Crystal® droits	J7 Flacons Crystal® retournés
EPPI	5,50	5,05	4,91
Solution basique	12,58	12,00	12,01

Le pH de l'EPPI et de la solution basique s'est légèrement acidifié durant les 7 jours de stockage à 25°C/60%RH. Néanmoins, le pH de notre solution test peut toujours être qualifié de « fortement basique » (pH \geq 12).

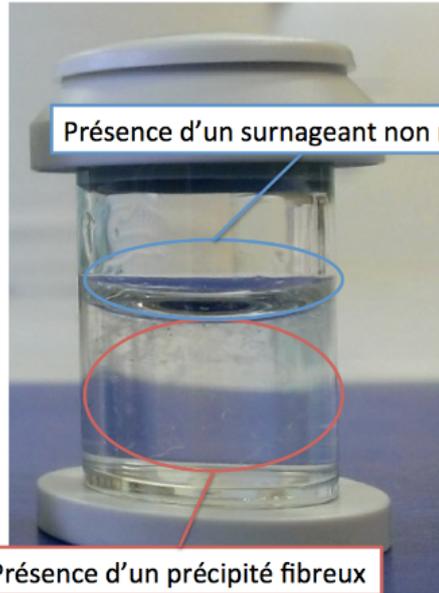
Le phénomène d'acidification est possible dans le flacon Crystal® par relargage en très faible quantité d'acide formique et d'acide acétique (résidus de synthèse) d'autant plus que les solutions ne sont pas tamponnées.

- *Observation macroscopique*

Les figures 50 et 51 présentent les observations macroscopiques d'un flacon Crystal® lors du conditionnement d'eau pour préparations injectables et de solution basique de pH 12.



J7
Flacon Crystal® conservé retourné
Eau ultrapure



Présence d'un surnageant non miscible

Présence d'un précipité fibreux

J7
Flacon Crystal® conservé retourné
Solution pH 12

Figure 50 : Comparaison visuelle des flacons à J7 lors de la conservation d'eau pour préparations injectables et de solution à pH 12 dans les flacons Crystal®



Flacons droits
pH 12



Flacons retournés
pH 12

Figure 51 : Observation macroscopique des 20mL de la solution à pH 12 recueillis dans 10 flacons Crystal® conservés 7 jours (droits et retournés)

- Analyse par le système QICPIC

L'analyse des particules par le système QICPIC est présentée en figure 52. Les particules observées sont de grandes tailles (plusieurs centaines de micromètres) et ont un aspect fibreux.



Figure 52 : Caractérisation des particules par analyse QICPIC

Les résultats du dénombrement particulaire sont présentés dans le tableau 26.

Tableau 26 : Comparaison du nombre de particules analysées dans le prélèvement de 20mL provenant des 10 flacons Crystal[®] en fonction du type de solution conditionnée (EPPI ou solution à pH 12) et de la position du flacon

Solution	EPPI		Solution pH 12	
Date	J7		J7	
Position du flacon	Droit	Retourné	Droit	Retourné
Analyse 1	26	58	76	3623
Analyse 2	22	49	98	1644
Analyse 3	23	46	93	909
Analyse 4	22	55	93	1029
Moyenne	23	52	90	1801
CV (%)	8%	11%	11%	70%
Détail :				
Particules < 10μm	22,0	51,9	88,4	1662,0
Particules ≥ 10μm	1,0	0,0	1,8	139,4
Particules ≥ 25μm	0,0	0,0	0,4	35,3

Avec 1801 particules dénombrées dans les flacons retournés contenant la solution basique de pH 12 vs 52 particules dénombrées dans des conditions similaires mais avec de l'EPPI de pH 6 (augmentation d'un facteur 34), l'analyse statistique a confirmé l'effet délétère de la solution basique ($p < 0,015$).

La seconde analyse statistique a confirmé la nécessité du contact avec le bouchon avec une différence significative ($p < 0,015$) entre le nombre de particules contenues dans les flacons droits (90 particules en moyenne) et le nombre de particules dans les flacons retournés (1801 particules en moyenne) pour les solutions conservées pendant 7 jours à pH 12.

La contamination particulaire est toujours plus élevée lors du contact avec le bouchon, même lors du conditionnement d'EPPI (52 vs 23 ; $p < 0,03$)

Le comptage effectué par le système QICPIC ne peut néanmoins remplacer un comptage type « Pharmacopée Européenne » car il est dépendant du flux de liquide dans la cellule ; il ne permet pas réellement un dénombrement rapporté au volume (nombre/mL). Les analyses entre les flacons contenant de l'EPPI et de la solution à pH 12 ayant été effectuées dans des conditions similaires, les données sont toutefois comparables.

De plus, la fragilité des fibres et le flux important nécessaire à l'analyse entraînent une fragmentation des particules qui deviennent difficilement détectables. Cela explique l'importante variation des résultats observés dans les flacons retournés contenant la solution basique [Coefficient de Variation (CV) de 70% sur les 4 mesures].

3.2.3.2. *Analyses thermogravimétriques*

Les résultats des analyses thermogravimétriques sont donnés en figure 53.

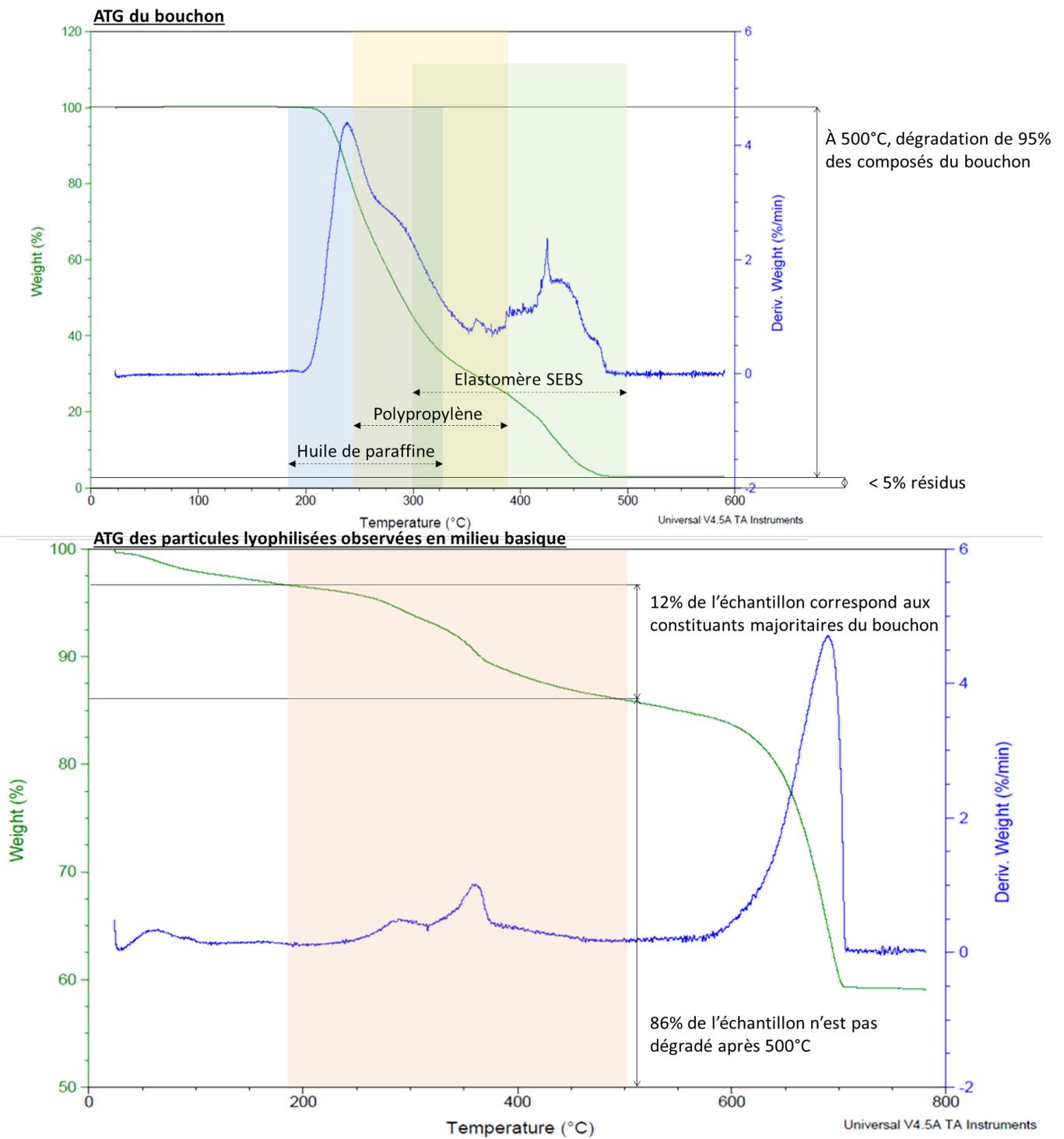


Figure 53 : Résultats des ATG réalisées sur un échantillon de bouchons Crystal® standards et sur les particules lyophilisées observées en milieu basique. Les courbes vertes représentent les suivis de la masse des échantillons en fonction de la température. Les fonctions dérivées sont représentées sur les courbes bleues.

Concernant le bouchon Crystal[®], l'ATG démontre que plus de 95% de l'échantillon est constitué de matériaux se dégradant entre 200°C et 500°C.

Le bouchon est constitué d'un mélange de matériaux, ce qui est observable par l'absence de pics spécifiques sur la courbe de la fonction dérivée du thermogramme.

Néanmoins, la composition qualitative du bouchon donnée par Aseptic Technologies [présence d'huile de paraffine, de polypropylène, d'élastomère de styrène-éthylène/butylène-styrène (SEBS)] et les données obtenues dans la littérature sur les analyses par ATG de ces substances pures sont en accord avec les résultats de l'analyse.

Ainsi, il est démontré que l'huile de paraffine se dégrade entre 180°C et 310°C (147), le PP entre 240°C et 360°C (148) et le SEBS entre 300°C et 490°C (149), ce qui est cohérent avec les températures de dégradation observées.

Concernant l'échantillon issu de la lyophilisation des particules générées en milieu basique, seulement 12% se dégrade lors de l'augmentation de la température de 200°C à 500°C. A cette température de 500°C, il reste 86% de la masse de l'échantillon. Les constituants majoritaires du bouchon (huile de paraffine, PP et SEBS) ne représentent potentiellement qu'une faible proportion dans la composition des particules.

La quantité restante est partagée entre une fraction se dégradant entre 500°C et 800°C (27%) et une importante fraction non dégradée à 800°C (59%). Il ne peut s'agir de molécules organiques qui sont forcément dégradées à cette température.

Une importante proportion du lyophilisat correspond donc à une/des molécule(s) inorganique(s) provenant d'un élément en très faible quantité dans la formulation initiale du bouchon.

D'un point de vue quantitatif, la masse obtenue de précipité confirme l'implication d'un constituant mineur, puisque ce précipité représente moins de 0,1% de la masse de bouchon introduite (38mg de lyophilisat pour 50g de bouchons).

Après discussion avec Aseptic Technologies, la piste du carbonate de calcium présent en très faible quantité dans le talc du colorant est envisagée. Les données de la littérature sur les analyses ATG de ce produit donnent des thermogrammes très proches de ce que l'on observe dans l'analyse réalisée sur le lyophilisat avec une dégradation entre 630°C et 830°C et un résidu supérieur à 50% après 830°C selon Li *et al.* (150) ou une dégradation entre 600°C et 800°C et un résidu supérieur à 55% après 800°C pour Chan *et al.* (151).

La collaboration avec Aseptic Technologies nous permettant d'avoir accès au colorant pur utilisé dans la fabrication du bouchon, cette piste doit être confirmée par la réalisation d'analyses par spectrométrie infrarouge pour confirmer son rôle dans l'apparition des particules.

3.2.4. Conclusion

L'étude réalisée confirme une incompatibilité entre les constituants du bouchon standard du flacon Crystal[®] et une solution fortement basique. L'utilisation d'un nouvel outil d'analyse particulaire permet de mettre en évidence la présence de particules fibreuses. Suite à l'analyse thermogravimétrique, l'apparition de ces particules suite au relargage d'un des constituants majoritaires du bouchon (huile de paraffine, PP, SEBS) est exclue.

L'existence d'une importante proportion (62,5%) du lyophilisat, non dégradée après 800°C, confirme la nature inorganique d'un/des constituant(s) majoritaire(s) des particules observées.

A ce titre, la présence de carbonate de calcium présent dans le talc du colorant est envisagée comme une hypothèse sérieuse.

L'utilisation de la spectroscopie d'absorption infrarouge, technique analytique permettant l'identification de composés et la détermination de la composition d'un échantillon, est envisagée pour compléter les résultats des ATG.

3.3. Synthèse des risques de contamination particulière

A travers ces différentes études, nous avons démontré l'existence d'un risque d'apparition de particules lors du conditionnement de solutions fortement basiques, uniquement lors d'un contact avec le bouchon. Dans ce cas, l'apparition de particules est rapide, toutes les analyses ayant été faites après 7 jours de conservation à 25°C/60%RH.

Ce risque, lié à un composé inorganique minoritaire comme le carbonate de calcium, ne semble pas exister pour des solutions neutres ou acides.

Concernant le pH basique, même s'il peut sembler extrême d'utiliser une solution à pH 12, l'idée était de se mettre dans le pire des cas (« worst case ») afin d'être sûr de ne pas passer à côté de ces phénomènes.

En pratique hospitalière, il est impossible d'assurer la tenue du flacon en position verticale pour ne pas favoriser le contact avec le bouchon. L'utilisation du flacon Crystal[®] doit donc être exclue pour les solutions fortement basiques et largement contrôlée pour des solutions plus faiblement basiques.

4. Risque de migration d'éléments solubles du flacon vers le contenu.

Les phénomènes de migration d'éléments du conditionnement vers le contenu sont possibles pour la plupart des matériaux utilisés (*cf.* partie générale)

Ces phénomènes sont facilement observables lors des études d'extractibles puisque les conditions d'extraction utilisées (solvants organiques, température élevée) sont volontairement drastiques pour favoriser la migration de composants. Ces études ont pour but de « cartographier » le risque en identifiant les composés pour ensuite faire un suivi dans des conditions normales d'utilisation.

En partenariat avec Aseptic Technologies, nous avons eu accès aux études d'extractibles (conditions drastiques) et de migration en conditions classiques effectuées par des laboratoires indépendants (Toxikon Corporation, Bedford, MA pour

les études d'extractables et Intertek, Genève, Suisse) sur le COC, le bouchon élastomérique et le conditionnement dans son intégralité (annexes 2, 3 et 4).

Après extraction, 13 molécules ont été identifiées comme des possibles migrants potentiellement observables lors du conditionnement de préparations parentérales. Ces produits ont ensuite été quantifiés dans les flacons Crystal[®] conservés droits et retournés à température ambiante pendant 1 an en contact avec différents solvants (eau pour préparations injectables, éthanol 10% et 2-phénoxyéthanol 0,5%). Dans toutes ces conditions, les analyses montrent moins de 50ppm d'acide acétique, 10ppm d'acide formique et de t-butanol et moins de 0,2ppm d'acétone, de dodecylacrylate, de 2,6-di-tert-butyl-1,4-benzoquinone, de bis (tert-butyl)phenol, de bisphénol A, de 7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione, de 3,5-di-tertbutyl-4-hydroxyphenyl propionic acid, de 2,6-di-tert-butyl-4-ethylphenol, de 2,4,6-tris-tert-butyl-phenol et de décaline (décahydronaphtalène).

En 2014, Bittner et *al.* ont évalué l'activité estrogénique des migrants retrouvés dans 14 résines plastiques, dont le COC, et ont confirmé qu'aucune activité ne pouvait être observée (56).

Jenke et *al.* s'interrogeaient néanmoins sur la présence de plastifiants dans le COC qui n'étaient pas prévisibles (54).

*« These extractables included [...] phthalates (both mono- and di- (2-ethylhexyl)phthalate were detected), oleamide, and either Irganox 1010 or its related degradation products. **The discovery of extracted phthalates is unique to this test article, as extractable phthalates are not typically associated with COC materials.** »*

Nous avons profité de l'expertise acquise au sein du laboratoire lors du développement du projet ARMED sur l'identification et la quantification des plastifiants alternatifs au DEHP pour confirmer ou non la possibilité d'observer ce type de molécule dans le flacon Crystal[®].

4.1. Extraction par reflux, bilan massique et caractérisation des plastifiants

4.1.1. Introduction

En accord avec le protocole expérimental pour la mise en place d'études d'extractibles développé par le Product Quality Research Institute (PQRI) Parenteral and Ophthalmic Drug Products (PODP) Leachables and Extractables Working Group (35), une extraction par reflux dans l'isopropanol associée à une identification et une quantification par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) a été réalisée sur les différents composants du flacon Crystal[®] (corps en COC, bouchons verts standards et bouchons gris 2) afin de confirmer ou infirmer la présence de plastifiants dans des conditions extrêmes d'étude d'extractibles.

Concernant le risque de perméation des dérivés phénoliques observés précédemment au cours de l'étude avec les 2 types de bouchons élastomériques, une des hypothèses envisagées était la différence de composition et la présence d'une forte quantité d'huile de paraffine dans la première formulation. Nous avons donc profité de l'extraction par l'isopropanol pour objectiver cette différence en réalisant un bilan massique.

4.1.2. Matériels et méthodes

4.1.2.1. Extraction

Trois extractions à chaud (protocole PQRI) ont été réalisées par reflux dans 250 mL d'isopropanol (VWR Chemicals, température d'ébullition=82,5°C) pendant 5 heures avec respectivement 26,70g de flacons en COC (uniquement les corps, exemple du montage en figure 54), 23,52g de bouchons verts standards et 23,21g de bouchons gris 2. Il s'agissait en effet d'une évolution du prototype utilisé lors des essais réalisés sur les dérivés phénoliques, par conséquent le terme bouchon gris **2** a été utilisé. L'isopropanol a ensuite été évaporé à chaud dans 3 cristallisoirs distincts afin de récupérer les extractibles présents dans les différents matériaux (flacons COC, bouchons standards et bouchons gris 2).



Figure 54 : Montage à reflux utilisé pour l'extraction des différents matériaux du flacon Crystal® (ici le corps en COC)

Une observation macroscopique du COC et des bouchons a été réalisée, puis la masse recueillie lors du processus d'extraction a été mesurée sur une balance de précision (XT220A Précisa, précision 0,0001g) et rapportée à 1 g de matière première analysée.

4.1.2.2. Analyse RMN

Les analyses RMN ont été effectuées sur le spectromètre AVANCE 500 BRUKER du Laboratoire d'Application RMN de la Faculté de Pharmacie de Lille 2 (EA GRITA 7365).

L'analyse des 3 extraits a été réalisée par RMN du proton à une dimension (RMN 1H 1D)

Pour l'analyse des 3 extractions récupérées dans des cristallisoirs, les dilutions ont été les suivantes :

- Flacons de COC : reprise de tout l'extrait par 700 µl de THF
- Bouchons Gris 2 : reprise de 80 mg d'extrait par 750 µl de THF
- Bouchons Verts : prélèvement à la pipette d'environ 80 mg d'extrait dissous dans 750 µl de THF

L'objectif était d'identifier et, si possible, de quantifier les plastifiants présents à l'aide de la méthode d'identification et de quantification par RMN des plastifiants alternatifs aux DEHP développée et validée avec l'aide du laboratoire dans le cadre du projet ARMED.

4.1.3. Résultats et Discussion

4.1.3.1. Extraction

Les résultats du bilan massique des quantités extraites sont donnés dans le tableau 27.

Tableau 27 : Bilan massique après évaporation de l'isopropanol

	Quantité extraite (mg/g de matière première)	Résultats (en % de la masse introduite)
Corps en COC	0,12	0,01%
Bouchons gris 2 (nouvelle formulation)	8,19	0,82%
Bouchons verts standards	269,44	26,94%

Les observations macroscopiques des extraits recueillis dans les cristallisoirs sont présentées en figure 55. La figure 56 montre les bouchons gris 2 et verts et les corps en COC après avoir subi 5 heures de reflux en milieu isopropylique.



Figure 55 : Résidus présents dans les cristallisoirs après la phase d'extraction dans l'isopropanol



Figure 56 : Observations macroscopiques des flacons et des bouchons avant et après le processus d'extraction

Extraction réalisée sur le corps en COC

L'extraction par l'isopropanol n'a pas permis la récupération d'une importante quantité de produits extraits (0,12 mg pour 1g de COC, soit 0,01% de la masse initiale).

On peut cependant noter une atteinte des caractéristiques macroscopiques du COC (blanchiments et fissures).

Extraction réalisée sur les bouchons

Plus de 25% de la masse initiale a été extraite par l'isopropanol des bouchons verts standards (269,44 mg de produits extraits pour 1g de bouchon vert). Les produits recueillis forment une solution visqueuse huileuse. A l'inverse, lors de l'utilisation de la nouvelle formulation des bouchons gris 2, seulement 8,19 mg/g sont extractibles (soit moins de 1%) et forment un extrait solide gras. Visuellement les bouchons standards verts se fissurent lors du processus d'extraction. Le phénomène n'est pas observable sur les nouveaux bouchons gris 2.

4.1.3.2. Analyses RMN

Les recherches de plastifiants dans les 3 matériaux testés ont montré :

Flacons COC

- Présence de DEHT (Di(ethylhexyl) terephthalate) (0,183mM dans l'échantillon, soit 1,8 µg/g de COC) à 8,03 ppm (déplacement chimique).
- Détection de traces (0,1mM dans l'échantillon, soit 1 µg/g de COC) de DEHP (Di(ethylhexyl) phthalate) ou de DINP (Diisononyl phthalate) à 7,58 et 7,72 ppm. La partie du spectre consacrée aux chaînes aliphatiques étant trop chargée (aux alentours de 4 à 4,5 ppm), il n'est pas possible de différencier le DEHP du DINP. L'analyse doit se faire sur le cycle aromatique qui est identique pour les 2 molécules (voir figure 58) d'où l'absence de certitude sur l'identité de l'un ou l'autre de ces plastifiants.

Nouveaux bouchons gris 2

- Détection de traces de DEHT (0,1mM dans l'échantillon, soit 2,4 $\mu\text{g/g}$ de bouchon) à 8,03 ppm de déplacement chimique
- Pas de trace de DEHP et ni de DINP

Bouchons standards verts

- Pas de trace de DEHT à 8,03 ppm de déplacement chimique
- Pas de trace de DEHP et ni de DINP

La limite de quantification admise pour une analyse RMN est de 0,1mM.

Les spectres obtenus lors de la recherche de DEHT sont présentés en figure 57 et ceux obtenus pour le DEHP ou le DINP sur la figure 58.

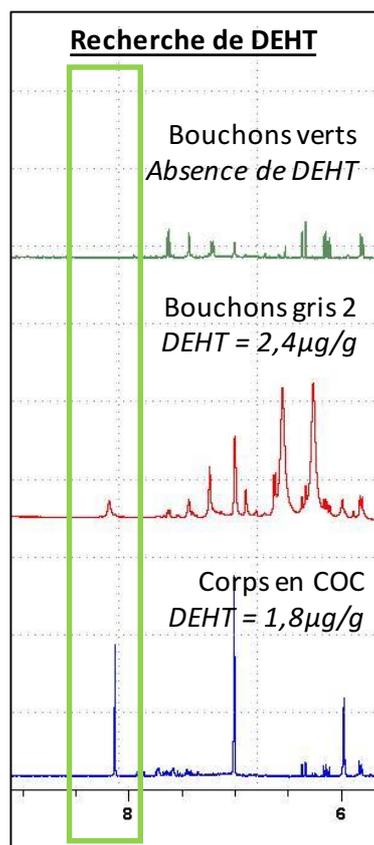


Figure 57 : Spectres RMN des produits extraits, recherche de DEHT (Attention : la quantité a été calculée en prenant en compte la dilution, il ne faut donc pas se fier à l'échelle du spectre)

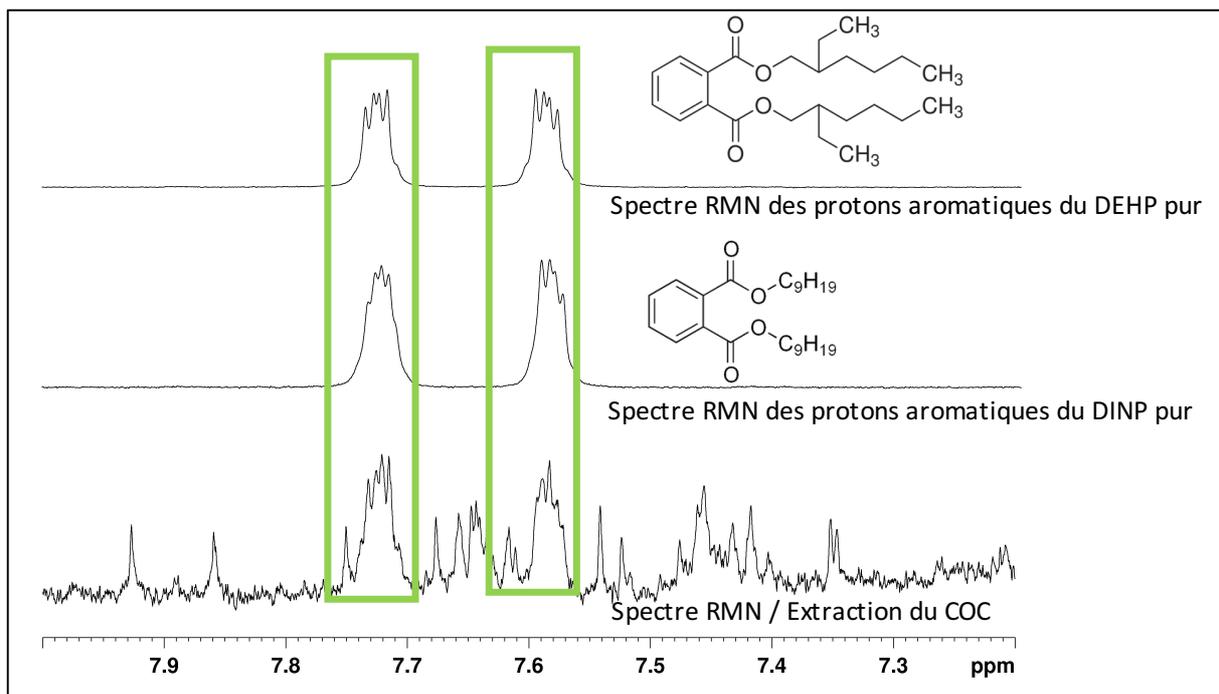


Figure 58 : Spectres RMN du DEHP et du DINP purs en comparaison avec l'analyse des produits extraits provenant du corps en COC du flacon Crystal®

4.1.4. Discussion

La recherche de plastifiants a permis de démontrer la présence de DEHT à 1,8 µg/g et de DEHP (ou DINP) à 1 µg/g dans le corps en COC des flacons Crystal®.

Néanmoins, à ce niveau de concentration, ces plastifiants sont largement en dessous du seuil où ils sont considérés comme élément trace puisque nous sommes aux environs de 1µg/g de matière première alors que la valeur limite autorisée pour être considéré comme « sans DEHP » est de 0,1% (soit 1000 µg/g de matière plastique) selon la réglementation REACH (Registration, Evaluation, Authorization and restriction of CHemicals), règlement de l'Union Européenne adopté pour protéger la santé humaine et l'environnement contre les risques liés aux substances chimiques (152).

Du DEHT est aussi observable dans le nouveau bouchon gris 2 (2,4 µg/g de bouchon).

Aucun plastifiant n'est extrait des bouchons verts malgré la grande quantité de produits extraits (> 25% de la masse introduite soit 30 fois plus que la quantité extraite des

bouchons gris 2), l'analyse RMN confirme la présence en grande quantité de chaînes aliphatiques potentiellement saturées de type paraffine.

Dans tous les cas, ces analyses ont été réalisées dans des conditions d'extraction drastiques par reflux à l'aide d'isopropanol à ébullition, il semble impossible en pratique d'exposer le patient au plastifiant contrairement aux conditionnements en PVC où la proportion de plastifiants est d'environ 30% (m/m) ce qui est sans commune mesure avec les très faibles quantités détectées dans cette étude.

A l'inverse des techniques classiquement utilisées pour les études d'extractibles, la RMN permet l'analyse directe, sans méthode séparative de molécules présentant des groupements et des structures spécifiques.

4.2. Synthèse des risques de migration d'éléments solubles

Les études d'extractibles (conditions drastiques) et de migration en conditions classiques (eau pour préparations injectables, éthanol 10% et 2-phénoxyéthanol 0,5%) demandées par Aseptic Technologies et effectuées par des laboratoires indépendants (Toxikon Corporation, Bedford, MA pour les études d'extractibles et Intertek, Genève, Suisse) sur le COC, le bouchon élastomérique et le conditionnement dans son intégralité permettent d'assurer un risque faible de migration d'éléments du conditionnement vers le contenu.

De plus, les analyses faites spécifiquement dans le cadre de cette thèse sur les plastifiants démontrent l'absence de risque de migration de ces produits lors de l'utilisation du flacon Crystal®.

Ces études confirment la bonne inertie chimique du COC par rapport aux autres plastiques (surtout le PVC) pouvant être utilisés dans la fabrication de conditionnement primaire (*cf* Partie Générale). L'utilisation du COC permet de ne pas exposer le patient aux plastifiants, et donc de diminuer les risques cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction liés à ces substances.

5. Conclusion sur l'évaluation des risques d'interactions liés à l'utilisation du flacon Crystal®

Ces différentes études visant à évaluer et valider les propriétés du flacon Crystal® ont permis de mettre en évidence la bonne inertie du flacon (corps en COC et bouchon en élastomère) vis-à-vis des phénomènes de sorption mais aussi des phénomènes de migration d'éléments du conditionnement vers la préparation parentérale.

Nous avons en effet démontré, pour les produits anticancéreux, aux concentrations et formulations étudiées, qu'il n'y avait pas de phénomène de sorption qui pourrait être lié à la lipophilie.

Concernant la migration des produits du flacon vers la préparation médicamenteuse, l'accès aux analyses de laboratoires indépendants démontrant le faible risque a été une première étape pour confirmer la bonne inertie chimique. Néanmoins, la littérature mettait en évidence la possible présence de plastifiants dans la matière première utilisée. Nous avons donc complété ces données par la réalisation d'études d'extraction par reflux à l'isopropanol et démontré que même si des plastifiants étaient observables, la quantité était si faible (1000 fois inférieure aux limites fixées dans la réglementation REACH pour le DEHP) qu'il est impossible d'envisager une réelle exposition des patients à ces molécules par l'intermédiaire du flacon.

Cependant, ces études ont permis de mettre en évidence le point faible du flacon qu'est le bouchon. Ce bouchon est composé d'un élastomère spécifique, breveté dont la formulation a été développée pour obtenir des propriétés nécessaires au processus innovant de remplissage aseptique avec notamment une élasticité suffisante, permettant immédiatement de reboucher le trou après le remplissage avec l'aiguille, mais aussi des propriétés thermoplastiques nécessaires à la re-fusion de l'élastomère.

Les analyses effectuées ont démontré deux grands risques liés à ce bouchon, la perméation des conservateurs phénoliques lipophiles et le risque de contamination particulière lors du conditionnement de solutions fortement basiques.

Tout l'intérêt de ce travail de thèse a été de collaborer activement avec l'industriel, de mettre en évidence des problèmes et de trouver des solutions permettant de remédier aux inconvénients de cette technologie. Cela a permis la formulation d'un nouveau bouchon limitant les phénomènes de perte de conservateurs phénoliques. Concernant l'impact sur la génération de particules, les premières évaluations en cours de réalisation montrent que cette nouvelle formulation limiterait considérablement la présence de particules. Ce nouveau bouchon appelée gris 2 est donc une solution aux problèmes soulevés lors des premières études.

L'ensemble des études réalisées et les améliorations apportées démontrent donc qu'il y a peu de risque et ainsi un réel intérêt pour la technologie Crystal® à l'hôpital.

De ce fait, afin d'en faciliter sa mise en place au sein de la pharmacie, il était essentiel de réaliser des études de stabilité afin de pouvoir présenter l'intérêt de la technologie et surtout de pouvoir immédiatement lancer des productions par lot.

Le deuxième chapitre de cette partie expérimentale détaille ainsi 3 études de stabilité réalisées sur un an et opposant le flacon Crystal® à la seringue en PP sur la conservation de solutions de céfuroxime, midazolam et noradrénaline.

Il est à noter que ces 3 études de stabilité, dont la durée était de 1 an, ont débuté avant l'obtention des nouveaux bouchons gris. Par conséquent, les résultats présentés reflètent la conservation dans les flacons verts standards non optimisés.

2^{ème} Partie : Etudes de stabilité à 1 an de préparations pouvant être produites en unités centralisées en flacons Crystal[®]

Nous avons choisi 3 molécules nécessitant une étape de reconstitution et/ou dilution avant l'administration aux patients, le céfuroxime utilisé dans la prévention de l'endophtalmie lors de la chirurgie de la cataracte, le midazolam et la noradrénaline utilisés dans les services de réanimation et de soins périopératoires pour la sédation et le maintien de la tension des patients.

Dans ces indications, les concentrations et/ou volumes utilisés ne correspondent pas aux médicaments disponibles sur le marché, obligeant leur préparation dans les services de soins avec les risques d'erreurs de doses, de contamination microbiologique et d'étiquetage que cela comporte.

Dans un centre hospitalier universitaire tel que le CHRU de Lille, cela correspond à des quantités annuelles préparées de plusieurs milliers d'unités. L'utilisation d'un système automatisé de remplissage des flacons Crystal[®] permettrait, dans le cadre d'une unité CIVAS, d'envisager la préparation automatisée d'un tel nombre d'unités sous réserve d'une stabilité suffisante.

1. Stabilité d'une solution de céfuroxime dosée à 10 mg/mL par chromatographie liquide couplée à une détection UV

1.1. Introduction

Les endophtalmies d'origine bactérienne, infections de l'intérieur du globe oculaire, sont des complications rares mais dramatiques de la chirurgie de la cataracte.

Dans ce contexte, l'injection intra-caméculaire en fin de chirurgie de 100µL d'une solution d'un antibiotique de la classe des céphalosporines, le céfuroxime à 10mg/mL, a démontré son efficacité et fait partie des recommandations données par l'« European Society of Cataract and Refractive Surgeons (ESCRS) » (153).

Le but de cette étude a été d'évaluer la stabilité, au sein d'un flacon Crystal[®] de 1mL, d'une solution de céfuroxime à 10 mg/mL dans du sérum salé isotonique (SSI) sur une durée de 365 jours et dans 3 conditions de température différentes.

Une comparaison avec le conditionnement de référence (la seringue de 1 mL en polypropylène BD Luer-Lock) actuellement utilisé dans les pharmacies hospitalières selon la méthode inscrite au Formulaire National (annexe 5) de la XI^{ème} édition de la Pharmacopée Française (154) a été réalisée afin de mettre en évidence un éventuel impact du flacon et du bouchon sur la stabilité de l'antibiotique.

1.2. Matériels et méthodes

1.2.1. Préparation et remplissage dans les flacons Crystal[®] et les seringues de la solution de céfuroxime à 10mg/mL

Les étapes de préparation et de remplissage ont été réalisées en zone à atmosphère contrôlée de classe A (Hotte à flux laminaire MaxiSafe 2020, Thermo Scientific, Saint Herblain, France).

La préparation de la solution à 10mg/mL a été réalisée dans une poche de 250mL en "Ethylene Vinyl Acetate" (EVA) (Bexen, Loos, France) selon les recommandations de la monographie inscrite au Formulaire National de la Pharmacopée Française XI^{ème} édition (154).

Les seringues de 1mL en polypropylène (Luer-Lock Tip 1mL, ref 309628, Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France) ont été remplies manuellement à l'aide d'un dispositif PCHIMX (Doran International, Toussieu, France) connecté à la poche en EVA.

Les flacons standards Crystal[®] de 1 mL (corps en COC et bouchon standard vert) ont été remplis et les bouchons re-fusionnés à l'aide de la station M1 Filling Station (Aseptic Technologies, Gembloux, Belgique) connectée à une pompe péristaltique (Baxa Repeater, Bracknell, England).

1.2.2. Etude de stabilité

En accord avec les recommandations de la SFPC/GERPAC (140) (Société Française de Pharmacie Clinique/Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée) et celles de l'International Conference on Harmonisation (141) (ICH), 3 conditions de conservation ont été testées :

- $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$
- $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$
- $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 60\% \pm 5\% \text{ RH}$

Juste avant le dosage, les flacons et les seringues stockés à -20°C étaient mis à décongeler pendant 30 min à température ambiante.

Pour assurer un contact avec le corps et le bouchon, la moitié des flacons étaient stockés retournés, l'autre moitié étant stockés droits.

A chaque date d'analyse, la concentration en céfuroxime et en descarbamoyl céfuroxime (produit de dégradation majoritaire, figure 59) était déterminée dans 3 flacons stockés droits, 3 flacons stockés retournés et 3 seringues.

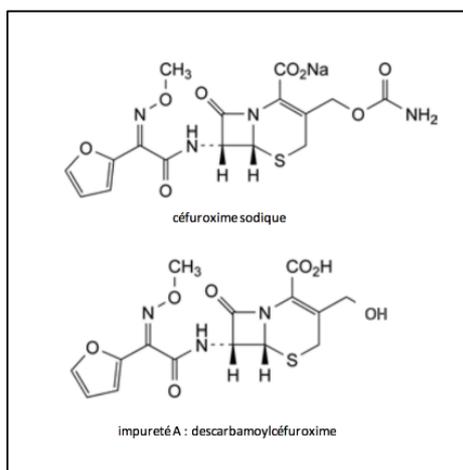


Figure 59 : Structures chimiques du céfuroxime et du descarbamoyl-céfuroxime caractérisé par l'absence du groupement amide

Les dosages du céfuroxime et de son produit de dégradation ont été réalisés selon une méthode HPLC/UV dérivée de la méthode du Formulaire National (154).

Des optimisations des conditions analytiques ont été effectuées afin d'accélérer l'élution tout en maintenant une bonne sélectivité.

Les conditions retenues sont :

- Système d'Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC) Shimadzu®
 - Pompe LC-20AD
 - Auto-sampler SIL-20AC XR
 - Four CTO-20AC programmé à +25°C
- Phase stationnaire : Colonne SphereClone C6 (5µm, 150mm x 4,6mm Phenomenex, Le Pecq, France)
- Phase mobile : Tampon acétate pH = 3,4 (6,01 g d'acide acétique glacial et 0,68 g d'acétate de sodium trihydrate par litre) et acétonitrile HiPerSolv Chromanorm (VWR International, Fontenay-sous-Bois, France) 95:5 (v/v).
- Débit de 1,5 mL/min
- Volume d'injection de 20 µL
- Détection : UV spectrophotomètre (SPD-M20A diode array detector) à 273 nm

Pour valider la sélectivité de notre méthode et ainsi la qualifier d'indicatrice de stabilité, une étude de dégradation forcée a été conduite. Les conditions (pH, température et durée) sont choisies afin de dégrader environ 20% du céfuroxime et pouvoir ainsi observer les premiers produits de dégradation. La dégradation forcée et la validation de la gamme de dosage (25-110µg/mL) ont été réalisées selon les recommandations SFPC/GERPAC (140). Juste avant analyse, les échantillons étaient dilués afin d'atteindre la valeur cible proche de 75 µg/mL.

En l'absence du produit de dégradation majoritaire disponible sous forme de poudre de référence, une analyse complémentaire a été réalisée par une technique de résonance magnétique nucléaire (RMN) afin de confirmer l'identification du pic majoritaire observé lors des processus de dégradation forcée (*i.e.* descarbamoyl-céfuroxime).

La concentration en céfuroxime a été exprimée comme le ratio (en %) entre la concentration déterminée le jour d'analyse et la concentration initiale (C_t/C_0).

L'évolution de la quantité en descarbamoyl-céfuroxime a été déterminée en fonction du rapport des aires sous le pic chromatographique au temps t par rapport au temps t_0 .

La solution de céfuroxime était considérée stable si la limite basse de l'intervalle de confiance à 95% était égale ou supérieure à 90% par rapport à la concentration à t_0 .

En plus de la quantification du céfuroxime et de son produit de dégradation, l'évolution de l'osmolarité (Advanced[®] model 3300 micro-osmometer, Advanced Instrument, Massachusetts, USA) et du pH (Hanna HI 223 pH Meter, Hanna Instrument, Michigan, USA) ont été déterminés sur la solution en poche en EVA juste après préparation (J_0) et sur la solution en flacons et en seringues conservés à -20°C pendant 365 jours. Finalement, la stérilité a été testée par filtration à J365 sur membrane selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne (3).

La méthode statistique utilisée pour les comparaisons est le test de Kruskal Wallis au seuil de 5%.

1.3. Résultats

1.3.1. Méthode HPLC/UV

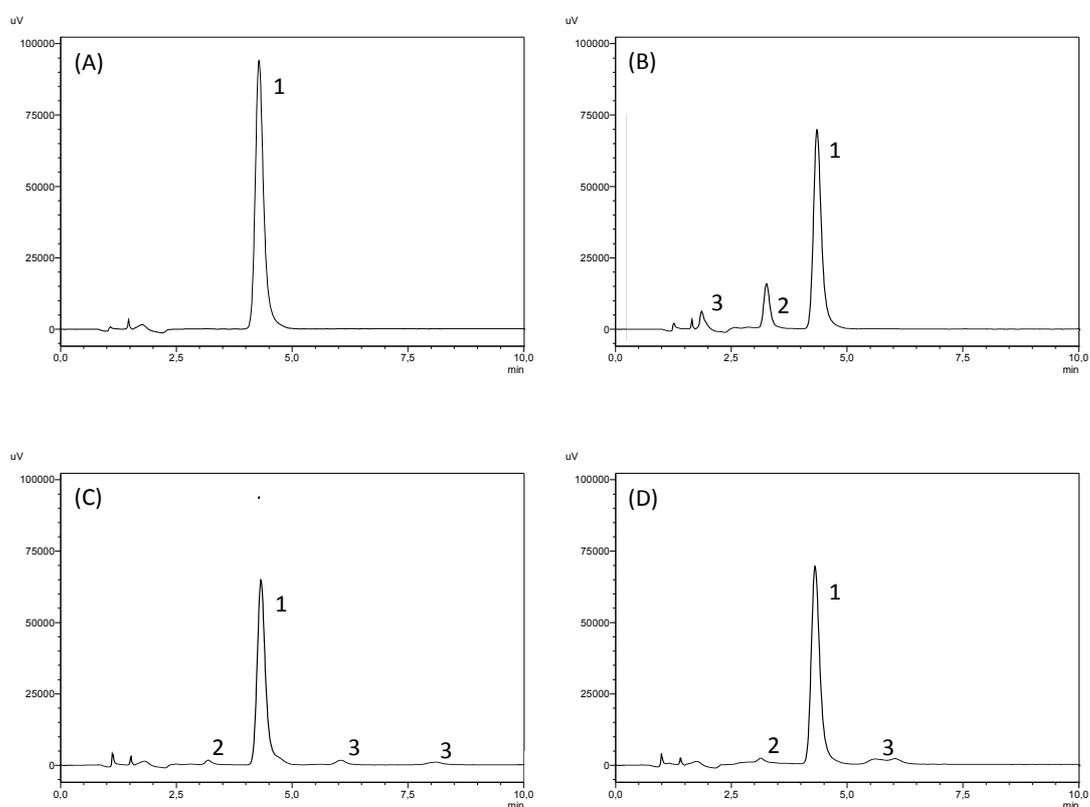
Selon le chromatogramme présenté en figure 59, le céfuroxime est élué en 4,3 min. Les dégradations forcées ne mettent pas en évidence d'interférences entre le céfuroxime et ses produits de dégradation dans toutes les conditions testées.

Les résultats de la validation analytique de la méthode sont résumés dans le tableau 28. Pour l'ensemble des points de la gamme, l'erreur totale est au maximum de 2,66%.

L'analyse RMN effectuée au laboratoire confirme que le produit de dégradation observé sur le pic 2 ($t_r=3,2\text{min}$) est bien le descarbamoyl-céfuroxime avec une perte du groupement amide (figure 59).

Tableau 28 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage de la solution de céfuroxime

Concentration (µg/mL)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
25	0,33%	1,63%	1,96%
70	-0,06%	0,39%	0,45%
90	-0,38%	1,15%	1,53%
110	2,42%	0,24%	2,66%



- | | |
|------------------------|--------------------------------------|
| A- Situation initiale | 1- Céfuroxime |
| B- 50°C, 180 min | 2- Descarbamoyl-céfuroxime |
| C- 50°C HCl 1N, 30 min | 3- Produits de dégradations inconnus |
| D- 50°C NaOH 1N, 4min | |

Figure 60 : Chromatogramme initial (A) et résultats de la dégradation forcée du céfuroxime à 10mg/mL (B, C et D)

1.3.2. Stabilité dans les flacons et les seringues

Les résultats de stabilité sont présentés dans les tableaux 29, 30 et 31 et les figures 61, 62 et 63, respectivement pour la conservation à $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ et $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 60\% \pm 5\% \text{ RH}$.

Tableau 29 : Evolution des concentrations de céfuroxime dans les flacons conservés droits ou retournés et dans les seringues lors du stockage à -20°C

Jours	Concentration de Céfuroxime (% of C ₀)					
	Flacons droits (n=3)		Flacons retournés (n=3)		Seringues (n=6)	
	Moyenne (%)	IC95%	Moyenne (%)	IC95%	Moyenne (%)	IC95%
0	102,3	[98,5 ; 106,1]	99,3	[97,1 ; 101,4]	99,7	[96,9 ; 102,4]
7	100,2	[95,9 ; 104,6]	100,8	[97,9 ; 103,7]	98,6	[95,9 ; 101,3]
14	98,8	[97,1 ; 100,6]	99,6	[96,4 ; 102,8]	100,8	[99,3 ; 102,2]
21	103,1	[103 ; 103,2]	103,2	[101,5 ; 105]	99,4	[97,6 ; 101,3]
28	101,7	[100,7 ; 102,8]	100,5	[97,5 ; 103,4]	98,4	[96,7 ; 100,1]
42	100,4	[98,4 ; 102,4]	101,2	[95,6 ; 106,7]	99,9	[98,5 ; 101,4]
56	95,6	[93,2 ; 98]	98,0	[95,1 ; 100,8]	96,4	[94 ; 98,7]
77	100,9	[99,1 ; 102,6]	101,9	[100,3 ; 103,6]	97,6	[97,1 ; 98,1]
90	98,4	[96,2 ; 100,7]	99,7	[97 ; 102,4]	97,2	[95,4 ; 99]
139	99,8	[99,4 ; 100,2]	101,4	[99,3 ; 103,5]	97,1	[93,3 ; 100,9]
220	96,3	[94,6 ; 98]	96,9	[93,5 ; 100,2]	92,9	[90,7 ; 95,1]
305	99,9	[97,2 ; 102,6]	102,9	[100,7 ; 105,1]	98,4	[95,7 ; 101,1]
365	100,9	[99,3 ; 102,5]	103,1	[102,0 ; 104,2]	101,2	[99,5 ; 102,9]

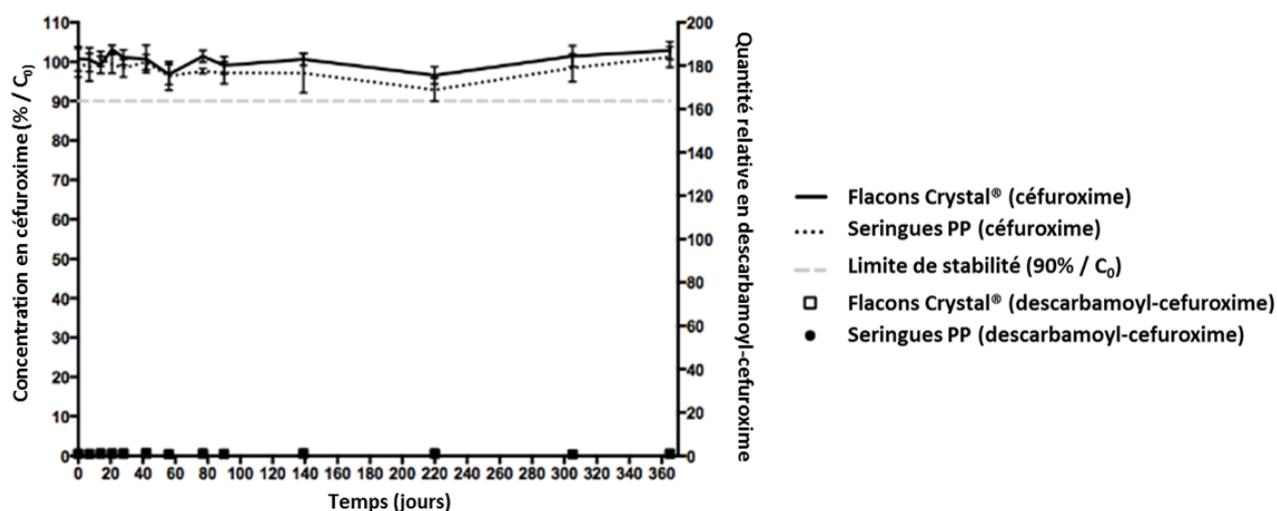


Figure 61 : Profils de stabilité du céfuroxime et de son principal produit de dégradation à -20°C

Lors de la conservation à -20°C , la solution de céfuroxime est considérée comme stable pendant les 365 jours d'études. (100,9%, 103,1% et 101,2%% respectivement pour les flacons droits, les flacons retournés et les seringues). Il n'y a pas d'impact du

conditionnement ni de la position de stockage. Les profils de stabilité sont identiques pour les 2 conditionnements sans apparition du produit de dégradation (figure 61).

Tableau 30 : Evolution des concentrations de céfuroxime dans les flacons conservés droits ou retournés et dans les seringues lors du stockage à +5°C

Jours	Concentration de Céfuroxime (% of C ₀)					
	Flacons droits (n=3)		Flacons retournés (n=3)		Seringues (n=6)	
	Moyenne (%)	IC95%	Moyenne (%)	IC95%	Moyenne (%)	IC95%
0	100,6	[98,3 ; 103]	99,3	[95,2 ; 103,3]	100,1	[98,4 ; 101,7]
7	96,5	[92,7 ; 100,3]	102,8	[96,1 ; 109,4]	97,0	[95,6 ; 98,5]
14	93,9	[93,4 ; 94,4]	94,6	[91,1 ; 98,1]	94,0	[93,1 ; 95]
21	92,4	[92,2 ; 92,7]	95,0	[91,3 ; 98,6]	92,6	[91 ; 94,1]
28	90,9	[87,8 ; 94]	91,2	[89 ; 93,4]	89,4	[86,8 ; 92]
35	85,6	[85,1 ; 86,1]	88,4	[85,6 ; 91,2]	86,6	[85,9 ; 87,3]
49	83,5	[82,7 ; 84,4]	84,5	[82,7 ; 86,4]	83,7	[83,1 ; 84,4]
57	81,1	[79,1 ; 83,1]	83,6	[83,2 ; 84]	81,4	[80,8 ; 82]
63	81,3	[79,6 ; 82,9]	81,7	[79,5 ; 83,8]	80,8	[80,2 ; 81,4]
70	75,9	[75,3 ; 76,6]	72,1	[66,1 ; 78,2]	74,6	[73,5 ; 75,7]
84	74,8	[70,3 ; 79,2]	74,0	[72,2 ; 75,9]	73,0	[72,2 ; 73,8]
98	68,6	[65,1 ; 72,1]	68,7	[64,9 ; 72,5]	63,8	[58,9 ; 68,7]
125	65,8	[64,9 ; 66,6]	66,2	[64,4 ; 68]	64,8	[64,4 ; 65,2]
162	48,2	[44 ; 52,5]	51,7	[44,7 ; 58,6]	53,7	[53 ; 54,5]
210	43,9	[40,9 ; 46,9]	44,6	[39,4 ; 49,8]	43,2	[40 ; 46,4]
250	35,6	[34,4 ; 36,9]	37,3	[36,7 ; 37,9]	31,7	[29,2 ; 34,3]

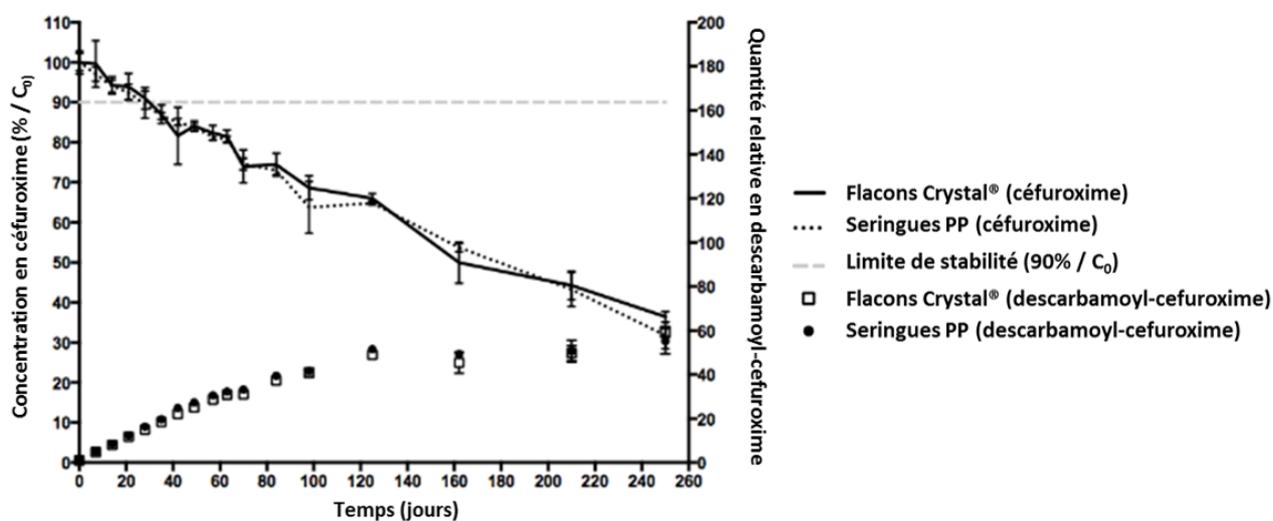


Figure 62 : Profils de stabilité du céfuroxime et de son principal produit de dégradation à +5°C

Lors de la conservation à +5°C, on observe une perte de stabilité à la même date, J28, pour les 2 conditionnements et les 2 positions de conservations (la solution est stable à J21 avec des concentrations à 92,4%, 95,0% et 92,6% respectivement pour les flacons droits, les flacons retournés et les seringues).

Les analyses ont été poursuivie jusqu'au J250 pour étudier la cinétique de dégradation (figure 62) des différents conditionnements. Les profils de stabilité sont similaires entre les 2 conditionnements pour le céfuroxime et son produit de dégradation.

Tableau 31 : Evolution des concentrations de céfuroxime dans les flacons conservés droits ou retournés et dans les seringues lors du stockage à +25°C et 60% RH

Heures	Concentration de Céfuroxime (% of C0)					
	Flacons droits (n=3)		Flacons retournés (n=3)		Seringues (n=6)	
	Moyenne (%)	IC95%	Moyenne (%)	IC95%	Moyenne (%)	IC95%
0	99,4	[97,2 ; 101,7]	100,6	[98,1 ; 103,1]	100,0	[98,4 ; 101,6]
2	97,5	[95,6 ; 99,3]	98,5	[96,0 ; 101]	98,1	[97,1 ; 99,0]
4	96,0	[94,7 ; 97,3]	96,4	[96,2 ; 96,5]	95,0	[94,2 ; 95,8]
6	98,5	[96,3 ; 100,6]	93,9	[92,7 ; 95,2]	95,1	[94,5 ; 95,7]
9	93,0	[91,4 ; 94,6]	95,7	[93,0 ; 98,4]	93,6	[93,1 ; 94,1]
12	93,4	[93,1 ; 93,7]	93,3	[90,9 ; 95,8]	92,4	[89,8 ; 95,0]
16	91,4	[90,8 ; 92,0]	92,2	[90,4 ; 94,1]	91,5	[90,9 ; 92,1]
18	90,2	[89,1 ; 91,2]	87,3	[84,1 ; 90,5]	88,9	[87,9 ; 90,0]
21	90,0	[89,5 ; 90,4]	88,0	[85,4 ; 90,7]	89,2	[88,7 ; 89,8]
24	90,4	[89,6 ; 91,2]	88,7	[86,4 ; 91,0]	88,3	[87,7 ; 89,0]
27	88,1	[87,9 ; 88,3]	88,2	[86,6 ; 89,7]	87,7	[86,8 ; 88,6]
30	87,1	[84,0 ; 90,2]	88,2	[87,2 ; 89,1]	84,7	[82,2 ; 87,3]
33	86,1	[83,8 ; 88,5]	84,2	[78,8 ; 89,5]	85,0	[84,4 ; 85,7]
36	86,1	[84,4 ; 87,8]	86,0	[85,7 ; 86,4]	83,4	[81,8 ; 85,0]
39	86,0	[85,4 ; 86,7]	81,1	[80,1 ; 82,0]	84,8	[83,1 ; 86,5]
43	84,0	[81,4 ; 86,7]	84,3	[83,1 ; 85,6]	84,3	[82,9 ; 85,6]
45	82,4	[81,1 ; 83,8]	84,0	[81,8 ; 86,1]	83,4	[82,5 ; 84,4]
48	80,5	[79,6 ; 81,5]	82,6	[78,9 ; 86,2]	83,0	[82,3 ; 83,6]

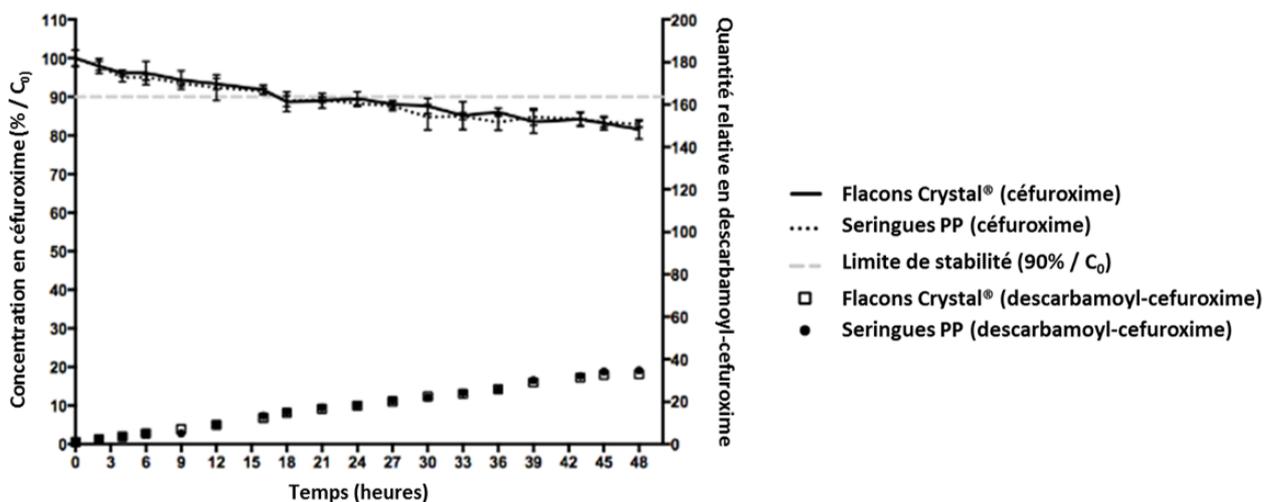


Figure 63 : Profils de stabilité du céfuroxime et de son principal produit de dégradation à +25°C/60%RH

La solution de céfuroxime est restée stable pendant 16 heures à +25°C/60%RH pour les 2 conditionnements et les 2 positions de conservations (91,4%, 92,2% et 91,5% respectivement pour les flacons droits, les flacons retournés et les seringues).

Le type de conditionnement (flacon ou seringue) ainsi que la position du flacon (droit ou retourné) n'influent pas sur les résultats de stabilité, les profils de stabilité sont identiques (figure 63) que ce soit pour le céfuroxime ou son produit de dégradation.

1.3.3. Osmolalité, pH et stérilité

L'osmolalité et le pH de la solution de céfuroxime dans la poche en EVA à la date initiale étaient respectivement de $327,33 \pm 3,06$ mosmol/Kg et $6,83 \pm 0,04$. Après 365 jours de conservation à -20°C, l'osmolalité était de $328,33 \pm 1,53$; $329,00 \pm 1,00$; $331,33 \pm 2,89$ mosmol/Kg et le pH à $7,25 \pm 0,01$; $7,29 \pm 0,02$; $7,28 \pm 0,04$ respectivement pour les flacons Crystal® conservés droits, conservés retournés et les seringues. Aucune différence significative entre les 2 dates n'a pu être démontrée ($p > 0,05$).

Les flacons et les seringues étaient toujours stériles après 365 jours de conservation à -20°C.

1.4. Discussion

Ce travail sur la stabilité du céfuroxime dans des flacons Crystal[®] a fait l'objet d'une publication. C'est la première étude publiée évaluant ce nouveau conditionnement et le comparant à un dispositif actuellement majoritairement utilisé, la seringue en polypropylène (155).

Considérant la similarité dans les profils de stabilité entre le flacons Crystal[®] et la seringue mais aussi entre les 2 positions de flacons (droits et retournés), nos résultats montrent l'absence de tous types d'interaction entre la solution de céfuroxime et le flacon pouvant conduire à une instabilité accrue dans ce conditionnement.

Notre étude démontre une stabilité de 365 jours lors de la congélation des flacons sans apparition de descarbamoyl-céfuroxime alors que dans les données précédemment publiées, la limite était de 135 jours (156). Cette durée de stabilité d'un an permet d'envisager la fabrication par campagne de plusieurs milliers d'unités ce qui renforce fortement l'intérêt pour une technologie de remplissage automatisable. La petite taille des flacons permet ensuite d'envisager un stockage facile.

A +5°C, nos résultats concordent avec ceux décrits par Uhart *et al.* (157) (21 jours de stabilité) et dépassent de 15 jours ceux données par Kodym *et al.* (158).

A +25°C, l'utilisation d'un nombre important d'échantillons (analyse toutes les 2 à 3 heures) permet une détermination précise de la limite d'instabilité (16 heures) alors que les études déjà publiées évoquent plutôt une stabilité de 24 heures (159–161).

Ces résultats obtenus à 25°C excluent évidemment la conservation des produits à température ambiante notamment au vu de l'apparition rapide du produit de dégradation. En revanche, c'est un argument majeur pour obliger à l'utilisation immédiate du produit après décongélation.

2. Stabilité d'une solution de midazolam dosée à 1 mg/mL par chromatographie liquide couplée à une détection UV

2.1. Introduction

Dans les services de soins intensifs, le midazolam est utilisé pour la sédation du patient. Il est dilué dans des seringues de 50mL, avec une solution salée (NaCl 0,9%) pour atteindre une concentration cible de midazolam de 1 mg/mL. La solution commerciale de départ est une solution à 50 mg/10 mL. Afin de mettre en évidence des potentiels risques spécifiques à l'utilisation de la technologie Crystal[®], nous avons comparé les flacons Crystal[®] de 50 mL en COC aux seringues Luer-Lock de 50 mL en PP.

2.2. Matériels et méthodes

2.2.1. Dosage du midazolam par HPLC/UV

Le dosage du midazolam a été réalisé par chromatographie liquide haute performance associée à une détection UV (HPLC/UV).

Des optimisations des conditions analytiques ont été effectuées afin d'accélérer l'élution, tout en maintenant une bonne sélectivité et une bonne sensibilité.

Les conditions retenues étaient :

- Phase stationnaire : Colonne Kinetex[®] Biphenyl 100Å, 50*2,1mm Phenomenex (Le Pecq, France)
- Phase mobile : 65/35 (A/B, mode isocratique)
 - Phase A : tampon acétate 20mM [Acétate de sodium trihydrate 2,72g/L (Merck, Allemagne) + Acide Trichloracétique (Merck, Allemagne) qsp pH=3,0].
 - Phase B : acétonitrile HiPerSolv Chromanorm (VWR International, Fontenay-sous-Bois, France).
- Débit : 0,2 mL/min
- Volume d'injection : 5 µL

- Température de la colonne : 25°C
- Système chromatographique Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC) Agilent (Les Ulis, France) 1290 Infinity LC
- Détection UV à 235 nm

Lors de la phase de validation, les solutions mères étaient préparées dans une fiole jaugée de 10 mL à une concentration de 1 mg/mL de midazolam (Sigma Aldrich Chimie S.A.R.L, France) dans de l'éthanol absolu (VWR, Fontenay-sous-Bois, France). La solution fille était obtenue par dilution au 1/50^{ème} de la solution mère dans de l'eau ultrapure (ELGA LabWater, Antony, France). La gamme d'étalonnage est réalisée sur 5 points de concentrations : 6/8/10/12/14 µg/mL. Un étalon interne, le diazépam dosé à 7,5µg/mL (Cooper, Melun, France) a été choisi pour corriger les éventuelles variations analytiques observées.

Pour valider la sélectivité de notre méthode « indicatrice de stabilité » une dégradation forcée a été conduite en milieu acide (HCl 0,1N pendant 10 min à température ambiante), basique (NaOH 0,1N pendant 10 min à température ambiante) et en présence de peroxyde d'hydrogène à 2,25% (H₂O₂ 2,25% pendant 90 min à température ambiante).

La dégradation forcée et la validation de la gamme de dosage ont été réalisées selon les recommandations SFPC/GERPAC (140).

L'exactitude de la méthode (erreur totale en %) a été calculée comme étant la somme du biais (justesse en %) et de la précision (fidélité intermédiaire en %).

2.2.2. Etude de stabilité

En accord avec les recommandations de la SFPC/GERPAC (140) et celles de l'ICH (141), 3 conditions de conservation (température, humidité) ont été testées sur une durée de 365 jours :

- - 20°C ± 5°C
- + 5°C ± 3°C

- + 25 °C ± 2°C à 60% ± 5% d'humidité relative (RH)

Pour attester de l'impact possible du bouchon sur la stabilité, la moitié des flacons étaient stockés retournés assurant un contact bouchon/solution, alors que l'autre moitié des flacons étaient stockés droits.

A J_0 , une solution de midazolam dosée à 1 mg/mL a été préparée à partir d'ampoules de midazolam Mylan (dosées à 50 mg/10 mL) en volume suffisant pour remplir manuellement 150 seringues Luer-Lock de 50 mL en polypropylène (PP) (Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France) et 300 flacons Crystal[®] standards en COC de 50 mL à l'aide de la station M1 Filling Station (Aseptic Technologies, Gembloux, Belgique) connectée à une pompe péristaltique (Pompe Flexicon PF6, Watson Marlow, La Queue Lez Yvelines, France).

La solution commerciale de midazolam est composée, en plus du principe actif, de différents excipients :

- Eau pour préparations injectables
- Chlorure de sodium
- Acide chlorhydrique ou hydroxyde de sodium pour obtenir un pH = 3,3

A chaque temps d'analyse prévu, la concentration en midazolam a été déterminée dans 3 flacons droits, 3 flacons retournés et 3 seringues. Les concentrations ont été exprimées comme le ratio en % entre la concentration déterminée le jour d'analyse et la concentration initiale (C_t/C_0 , %).

La limite de stabilité a été fixée à 90%. Les concentrations des flacons droits et retournés ont été comparées à la concentration en seringue à l'aide d'un test de Student, une correction pour comparaison multiple par la méthode de Holm Sidak a été réalisée. La différence était considérée comme significative avec un risque α de 5%.

Pour les solutions conservées à -20°C, les conditionnements ont été laissés 4 heures à température ambiante pour permettre la décongélation de la solution.

Une dilution des échantillons (théoriquement de 1 mg/mL à 10 µg/mL) était nécessaire afin de permettre le dosage par la méthode de HPLC/UV validée.

Des tests de stérilité (3) et de contamination particulaire (4) (APSS 2000, Particle Measuring System, Boulder, Etats Unis) ont été effectués selon les spécifications de la Pharmacopée Européenne afin de garantir le caractère injectable de la préparation. De même, un suivi du pH a été réalisé (Hanna HI 223 pH Meter, Hanna Instrument, Michigan, USA). Les mesures ont été effectuées à J₀ et à la date de fin d'étude.

2.3. Résultats

2.3.1. Validation de la méthode HPLC/UV

Le chromatogramme obtenu est présenté en figure 64.

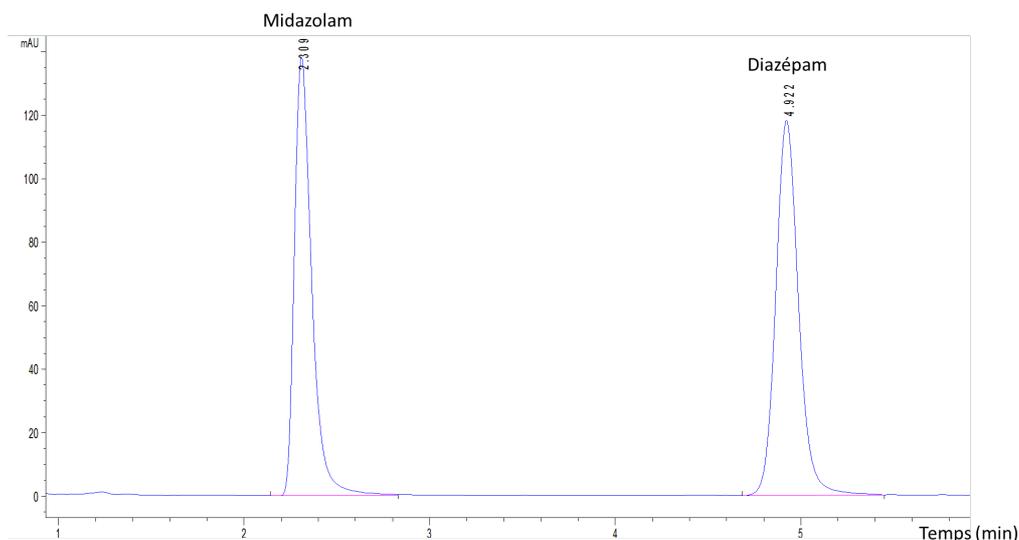


Figure 64 : Chromatogramme d'une solution de midazolam à 10µg/mL et du diazépam (étalon interne) à 7,5µg/mL (tr=2,3 min : midazolam ; tr=4,9 min : diazépam)

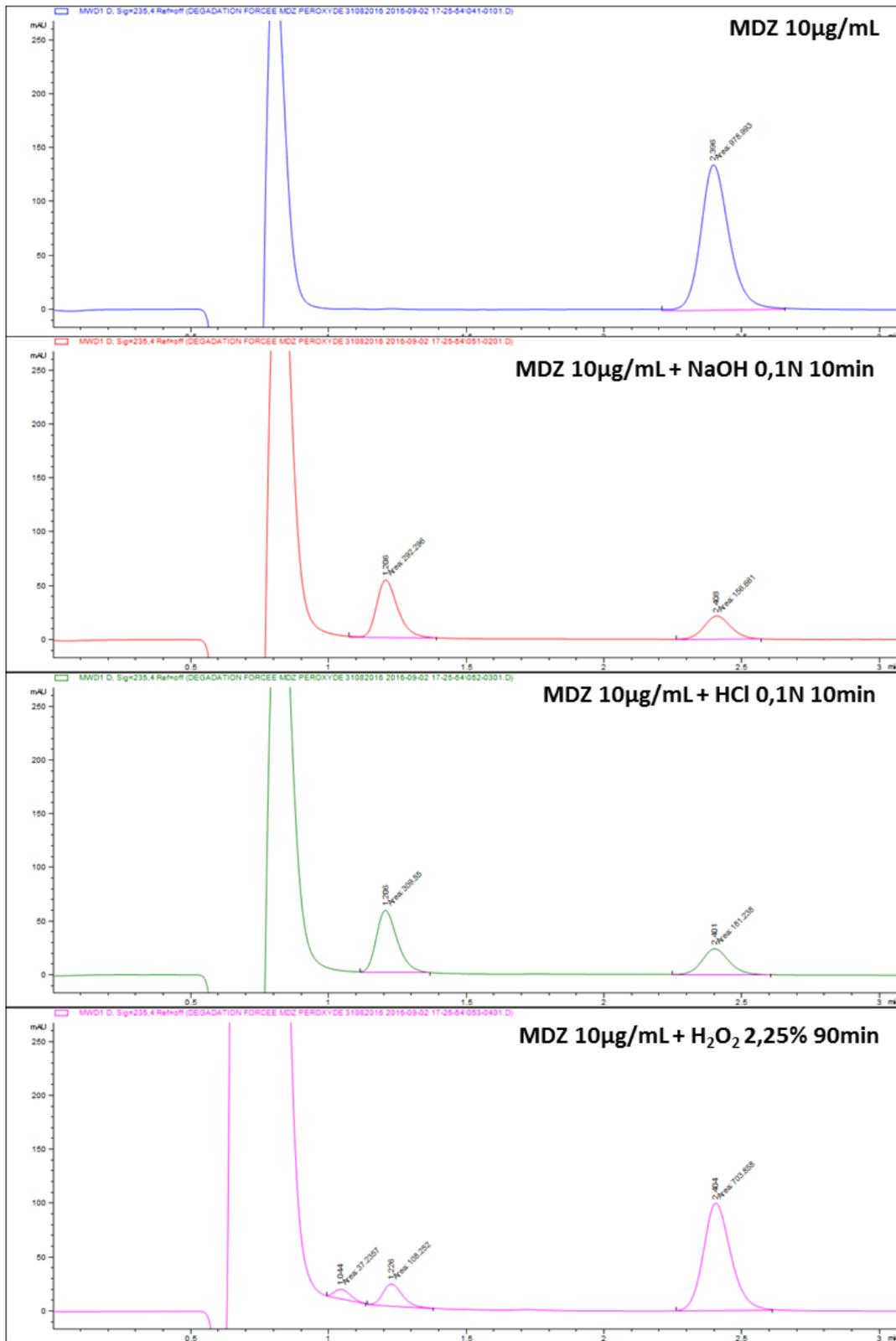


Figure 65 : Chromatogrammes obtenus lors des études de dégradations forcées sur une solution à 10µg/mL de midazolam (MDZ=midazolam)

Lors des études de dégradation forcée, aucune interférence entre le midazolam et ses produits de dégradation n'a été observée dans toutes les conditions testées (figure 65).

Les résultats de la validation analytique de la méthode sont résumés dans le tableau 32. Pour l'ensemble des points de la gamme, l'erreur totale est au maximum de 6,01%.

Tableau 32 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage de la solution de midazolam

Concentration (µg/mL)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
6	-1,35%	0,94%	2,29%
8	1,31%	0,38%	1,69%
10	-0,98%	1,40%	2,39%
12	2,14%	3,87%	6,01%
14	-1,18%	1,96%	3,14%

2.3.2. Etude de stabilité

Les résultats des différents dosages sont donnés dans les tableaux 33, 34 et 35 et résumés dans les figures 66, 67 et 68 pour les conditions de conservations à -20°C, 5°C et 25°C/60%RH respectivement.

Tableau 33 : Résultats des dosages de la solution de midazolam (1mg/mL) obtenus lors de la conservation à -20°C

(* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	101,75	0,26	100,00	0,37	99,89	0,00
2	102,10	1,90	99,08*	0,41	100,83	1,74
3	101,33	0,27	101,17	2,00	101,36	1,4
4	100,88	0,55	101,32	0,82	101,32	0,82
7	99,96	1,23	101,40	1,63	100,66	1,84
14	99,86	0,95	99,46	1,05	99,57	0,57
21	99,92	1,00	98,70	0,67	99,84	0,42
28	99,42	0,91	99,63	0,61	99,80	0,63
60	99,83	1,28	99,76	0,33	100,75	1,42
90	99,80	0,17	100,22	0,23	99,80	0,29
180	99,90	1,01	99,75	0,50	99,42	0,17
270	99,48	0,98	99,21	0,78	99,25	0,52
365	99,29	0,85	99,19	0,79	99,01	0,57

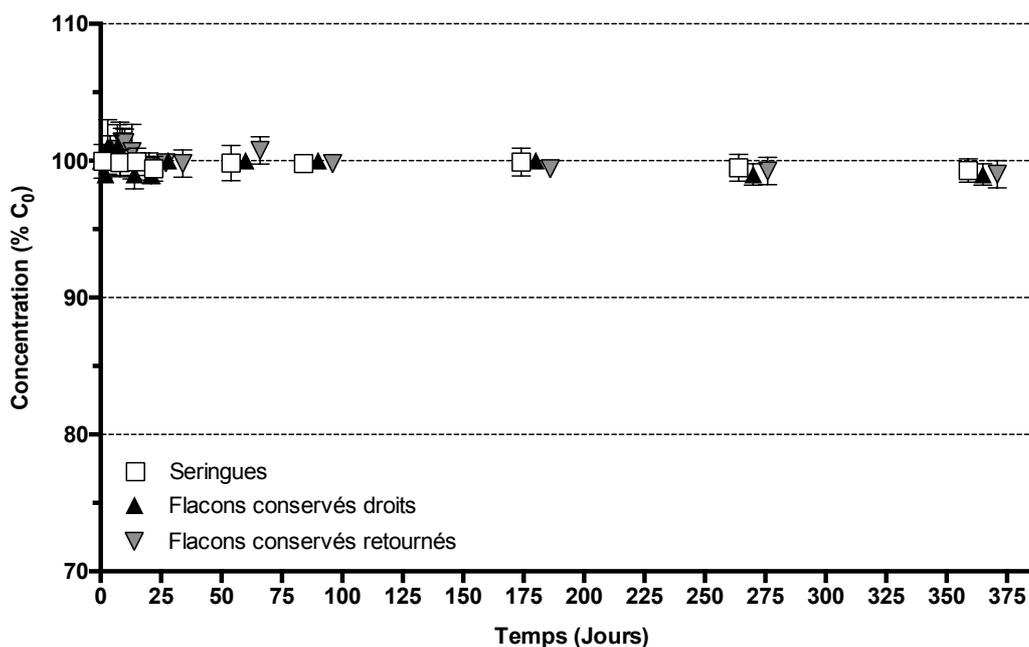


Figure 66 : Stabilité de la solution de midazolam (1mg/mL) lors de la conservation en seringues et en flacons Crystal® à -20°C

Tableau 34 : Résultats des dosages de la solution de midazolam (1mg/mL) obtenus lors de la conservation à +5°C

(* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	98,74	0,05	100,28	0,25	102,44*	0,15
2	100,83	2,23	102,82	2,72	101,85	2,21
3	100,52	1,82	100,40	1,22	102,51	1,64
4	100,79	2,14	100,40	1,22	102,99	2,36
7	98,64	2,20	102,33	3,38	102,72*	1,60
14	101,54	0,59	101,30	1,36	102,23	1,28
21	101,25	0,60	101,19	1,18	100,43	0,44
28	101,06	1,98	98,90	0,40	99,20	0,77
60	100,30	1,96	99,65	0,37	99,72	1,04
90	100,71	0,20	100,75	1,10	99,91	0,37
180	100,81	1,92	98,51	2,04	100,08	0,27
270	98,42	0,12	98,79	2,25	98,45	0,21
365	97,89	0,51	97,95	1,25	98,01	0,54

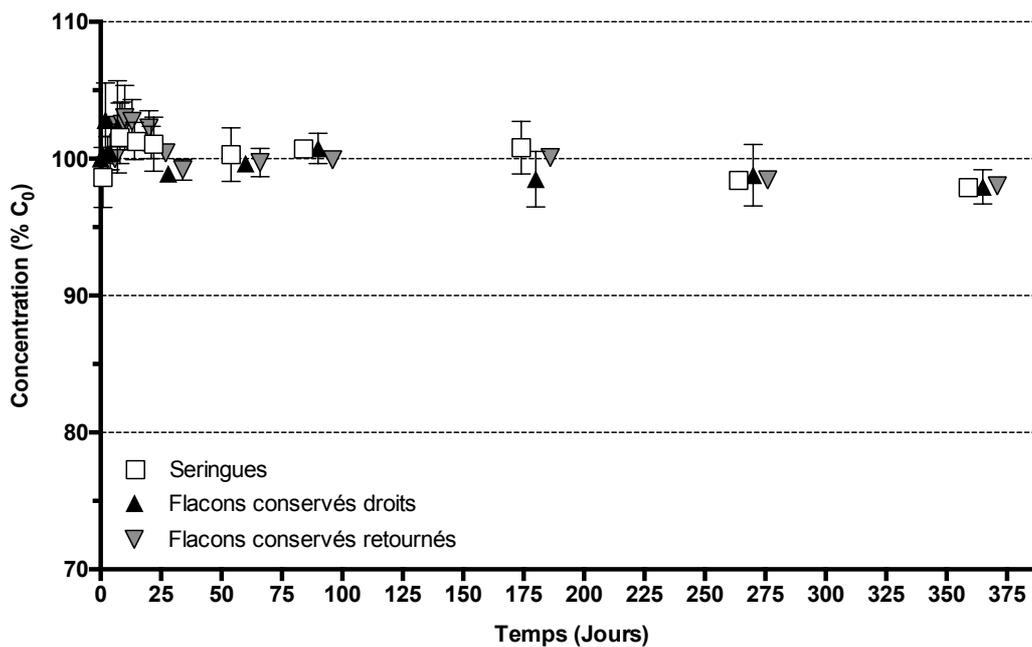


Figure 67 : Stabilité de la solution de midazolam (1mg/mL) lors de la conservation en seringues et en flacons Crystal® à +5°C

Tableau 35 : Résultats des dosages de la solution de midazolam (1mg/mL) obtenus lors de la conservation à +25°C/60%RH (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	101,51	1,65	99,89	0,37	100,64	0,19
2	101,17	1,60	101,05	1,86	100,34	0,14
3	101,79	1,19	101,07	1,29	99,84	1,01
4	101,79	0,71	101,99	2,28	99,78	2,23
7	100,69	2,09	101,57	1,40	98,74	1,06
14	102,71	1,45	100,43	0,55	98,76*	1,50
21	98,90	2,84	100,35	0,64	98,85	0,63
28	98,24	0,26	98,49	0,59	98,30	0,53
60	96,86	2,83	98,65	0,70	97,84	1,15
90	92,71	1,43	98,76*	0,53	97,90*	0,44
120	89,11	2,84	97,89*	0,35	95,24*	0,97
150	88,64	4,73	94,38*	0,14	93,27*	0,28
180	87,25	0,61	92,12*	0,15	91,57*	0,15
210	85,99	1,81	90,07*	0,11	89,48	0,18
240	82,78	0,40	84,78	0,16	85,33	0,21
270	79,24	0,48	81,72	2,91	82,69	0,57
330	76,25	0,34	79,15	1,12	79,12	0,75
365	74,48	0,84	78,51*	0,59	77,01	0,79

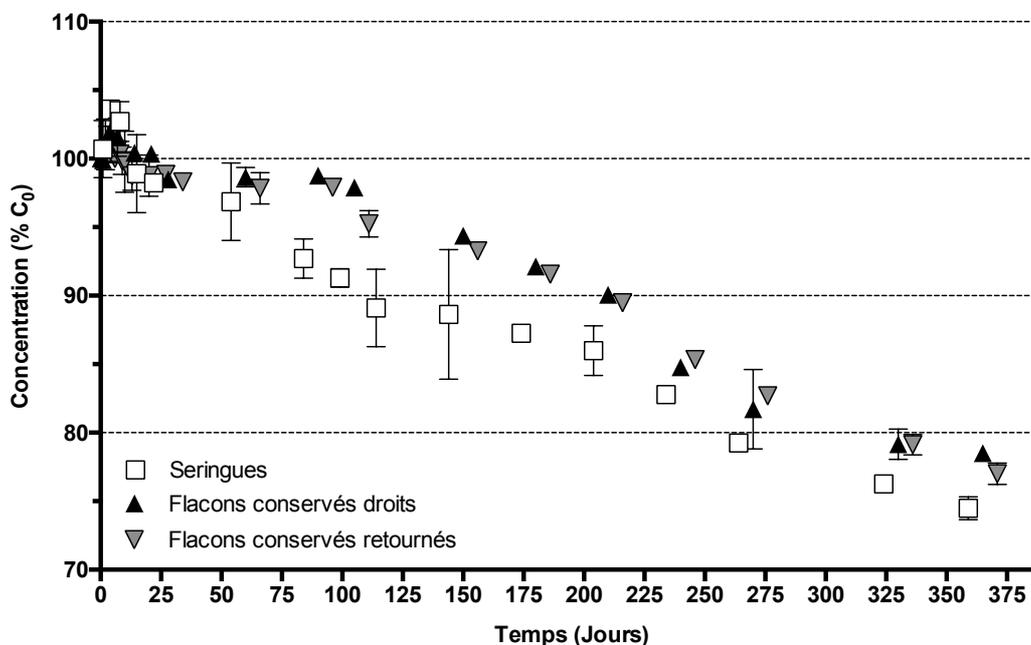


Figure 68 : Stabilité de la solution de midazolam (1mg/mL) lors de la conservation en seringues et en flacons Crystal® à +25°C/60%RH

La solution de midazolam est stable pendant 1 an lors de la conservation à -20°C (respectivement 99,29 ± 0,85%, 99,19 ± 0,79% et 99,01 ± 0,57% pour les seringues, flacons droits et retournés à t=365 jours).

De même, la solution de midazolam est stable pendant 1 an lors de la conservation à +5°C (respectivement 97,89 ± 0,51%, 97,95 ± 1,25% et 98,01 ± 0,54% pour les seringues, flacons droits et retournés à t=365 jours).

Lors de la conservation en enceinte climatique (+25°C/60%RH), on observe une perte de la stabilité, selon la limite fixée de 90%, à J120 pour la seringue (89,11 ± 2,84%) et à J210 pour les flacons Crystal® (respectivement 90,07 ± 0,11% et 89,48 ± 0,18% pour les flacons stockés droits et retournés). Les durées de stabilité retenues (derniers dosages au dessus de 90%) sont donc de 90 jours et de 180 jours respectivement pour les seringues et les flacons Crystal®.

Les résultats des comptages particulières à J365 sont conformes aux critères de la pharmacopée européenne (4) (tableau 36, moins de 6000 particules / conditionnement de tailles supérieure ou égale à 10 µm et moins de 600 particules de taille supérieure ou égale à 25µm en accord avec le chapitre 1.b de la monographie détaillant le test des conditionnements de volume <100mL).

Tableau 36 : Nombre moyen de particules (par type de conditionnement) de plus de 10µm et 25µm à J365

	Particules ≥ 10 µm	Particules ≥ 25 µm
Conservation : 25°C / 60%RH		
Seringue 50mL	110 ± 42	19 ± 13
Flacons droits 50mL	43 ± 15	14 ± 10
Flacons retournés 50mL	43 ± 13	8 ± 3
Conservation : 5°C		
Seringue 50mL	50 ± 13	11 ± 6
Flacons droits 50mL	39 ± 8	3 ± 3
Flacons retournés 50mL	46 ± 9	4 ± 5
Conservation : -20°C		
Seringue 50mL	18 ± 9	3 ± 3
Flacons droits 50mL	24 ± 7	0 ± 0
Flacons retournés 50mL	11 ± 7	2 ± 4

Tous les flacons et seringues sont toujours stériles à J365 quelles que soient les 3 conditions testées.

Il n'y a pas d'évolution de pH entre le J₀ et la fin de l'étude (tableau 37), celui-ci reste en dessous de pH=4. A ce pH, la fermeture du cycle est minimisée (figure 69), la molécule est plus hydrophile et le risque d'interaction avec le polymère est plus faible (162).

Tableau 37 : Résultats des mesures de pH des solutions de midazolam à J0 et J365

		Seringues	Flacons droits	Flacons retournés
-20°C	J0	3,40 ± 0,02	3,40 ± 0,02	3,40 ± 0,02
	J365	3,45±0,01	3,43 ± 0,01	3,44 ± 0,02
5°C	J0	3,40 ± 0,02	3,40 ± 0,02	3,40 ± 0,02
	J365	3,45 ± 0,01	3,45 ± 0,01	3,45 ± 0,01
25°C / 60%RH	J0	3,40 ± 0,02	3,40 ± 0,02	3,40 ± 0,02
	J365	3,52 ± 0,01	3,51 ± 0,01	3,49 ± 0,02

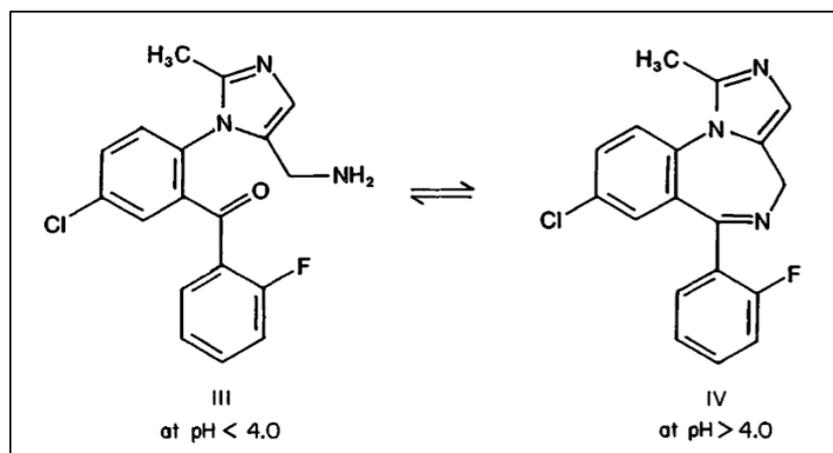


Figure 69 : Structure moléculaire du midazolam en fonction du pH d'après Bianchi *et al.* (162)

2.4. Discussion

A -20°C, la solution de midazolam (1mg/mL) est stable pendant 365 jours. A notre connaissance, aucune étude actuellement publiée ne mentionne la possibilité de congeler une solution de midazolam à 1mg/mL prête à l'emploi à cette concentration dans le NaCl 0,9%. La conservation sous forme congelée, pour les molécules compatibles, permet pourtant une stabilité maximale mais pose cependant la question

du processus de décongélation (4 heures à température ambiante dans notre cas). Différentes études valident l'utilisation des micro-ondes pour la décongélation (163–165). Des essais sur la solution de midazolam et l'utilisation du flacon Crystal[®] devront être réalisés en cas d'utilisation de micro-ondes pour la décongélation.

A +5°C, la solution de midazolam est aussi stable pendant 365 jours dans les 2 conditionnements et quelle que soit la position du flacon (droite ou retournée). Dans la littérature, une seule étude (166) a évalué, à cette température de conservation, la stabilité du midazolam lors du stockage en seringue en polypropylène. La concentration était plus importante (2mg/mL) et la durée démontrée beaucoup plus faible (10 jours). Dans des conditions similaires à notre étude (1mg/mL dans le NaCl 0,9%, conservation à 5°C à l'abri de la lumière, limite à 90%) mais pour un stockage en poche en PVC, Bleasel et *al.* démontrent une stabilité de 30 jours (167). A cette date d'analyse, la concentration était toujours supérieure à 98%, ce qui confirme nos données. Malheureusement, ils n'ont pas poursuivi les dosages au-delà et nous n'avons donc pas de données à des dates ultérieures pour comparer le reste de l'étude. Pour notre part, dans nos conditions opératoires, nous pouvons garantir une stabilité à 365 jours.

Lors de la conservation à température ambiante, la solution est moins stable dans la seringue (90 jours) que dans le flacon Crystal[®] qu'ils soient conservés droits ou retournés (180 jours). Dans tous les cas, les durées de stabilité observées dans cette étude sont meilleures que celles retrouvées dans la littérature qui sont données à 27 jours (168) ou à 30 jours (167). Mais ces durées correspondent aux derniers dosages effectués par les auteurs.

Dans tous les cas, le contact avec le bouchon n'a pas d'impact puisque nous obtenons des résultats similaires, que les flacons soient conservés droits ou retournés.

Il n'y a pas d'évolution du pH de la solution qui est toujours inférieur à 4 dans toutes les conditions. Au niveau de la structure moléculaire, la fermeture du cycle est minimisée. La molécule est ainsi plus hydrophile et le risque d'interaction avec le polymère est plus faible.

Les différents conditionnements demeurent stériles et conformes en termes de contamination particulaire.

Pour toutes les conditions de températures, notre étude est ainsi la première à évaluer sur une durée aussi longue (365 jours) la stabilité d'une solution de midazolam à 1 mg/mL en seringue en polypropylène mais aussi dans un nouveau conditionnement en COC.

Les profils de stabilité obtenus sont donc identiques lors du conditionnement en flacon Crystal[®] et en seringue à -20°C et +5°C et favorables au flacon Crystal[®] lors de la conservation à +25°C/60%RH. Il ne peut être établi de différences selon la position du flacon. Comme pour le céfuroxime, cette étude démontre donc l'absence d'interactions spécifiques entre la solution de midazolam et le flacon Crystal[®] (corps ou bouchon).

En pratique, la conservation à +5°C serait évidemment privilégiée dans le cadre d'une préparation centralisée. Les données obtenues à température ambiante apportent cependant une sécurité quant à la réactivité lors de l'utilisation dans les services de soins puisque la solution reste stable à température ambiante pendant 90 jours dans les seringues et 180 jours dans les flacons Crystal[®].

3. Stabilité d'une solution de noradrénaline dosée à 0,5 mg/mL et 0,2 mg/mL par chromatographie liquide couplée à la détection UV

3.1. Introduction

La noradrénaline est une molécule fréquemment utilisée dans la prise en charge des patients relevant de soins intensifs et de réanimation dans le cadre de la prise en charge des hypotensions non corrigées par la restauration de la volémie grâce à ses effets vasculaires de type agoniste α_1 (vasoconstriction artérielle et veineuse) et ses effets cardiaques de type β_1 (action inotrope, chronotrope, dromotrope et bathmotrope positives). Elle est obligatoirement perfusée sur une voie veineuse centrale après dilution de la solution commerciale concentrée à 2 mg/mL. Il est usuel d'utiliser une solution salée isotonique (SSI - NaCl 0,9%) pour obtenir une solution de noradrénaline

diluée à 0,2 ou 0,5 mg/mL. Nous avons évalué la stabilité d'une solution de noradrénaline dans deux types de conditionnements (flacons standards Crystal® en COC de 20 et 50 mL et seringues Luer-Lock PP de 20 et 50 mL) et pour deux concentrations (0,2mg/mL et 0,5mg/mL). Cette étude a donc permis l'évaluation de 2 facteurs pouvant impacter la stabilité : le volume de conditionnement et la concentration en principe actif.

3.2. Matériels et méthodes

3.2.1. Dosage de la noradrénaline par HPLC/UV

Le dosage de la noradrénaline a été réalisé selon une méthode de chromatographie liquide haute performance associée à une détection UV (HPLC/UV). Selon les conditions suivantes :

- Phase stationnaire
 - Colonne C18 Apollo (Grace, Columbia, Etats-Unis) 5µm, 250 mm x 4,6 mm
- Phase mobile : 97/3 (A/B, mode isocratique)
 - Phase A : tampon phosphate KH_2PO_4 20 mM + acide o-phosphorique qs pH=2,5.
 - Phase B : acétonitrile HiPerSolv Chromanorm Gradient grade (VWR International, Fontenay-sous-Bois, France).
 - Débit : 1 mL/min
- Volume d'injection : 5 µL
- Température de la colonne : 25°C
- Système d'Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC) : Agilent 1260 Infinity LC
- Détection à 279 nm

Pour la validation de la gamme, des solutions mères de noradrénaline ont été préparées à la concentration de 1 mg/mL à partir d'ampoules à 2 mg/mL Mylan (sans conservateur et ayant comme excipients : EPPI, chlorure de sodium et acide chlorhydrique pour un obtenir un pH compris entre 3,0 et 4,5) qui seront diluées dans

le NaCl 0,9%. Les dosages ont été réalisés sur 3 jours, avec 3 solutions mères de noradrénaline prélevées indépendamment.

La gamme d'étalonnage a été effectuée avec 5 points de concentration compris entre 60 et 140% de la valeur cible, à savoir la valeur de concentration initiale de chaque reconditionnement (0,2 et 0,5 mg/mL).

Pour valider la sélectivité de notre méthode « indicatrice de stabilité », une dégradation forcée a été conduite en milieu acide (HCl 0,1N pendant 120 minutes à température ambiante), basique (NaOH 0,01N pendant 5 min à température ambiante) et en présence de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ 30% pendant 120 minutes).

La dégradation forcée et la validation de la gamme de dosage ont été réalisées selon les recommandations SFPC/GERPAC (140).

L'exactitude de la méthode (erreur totale en %) a été calculée comme étant la somme du biais (justesse en %) et de la précision (fidélité intermédiaire en %).

3.2.2. Etude de stabilité

En accord avec les recommandations de la SFPC/GERPAC (140) et celles de l'ICH (141), 3 conditions de conservation (température, humidité) ont été testées sur une durée de 365 jours :

- - 20°C ± 5°C
- + 5°C ± 3°C
- + 25 °C ± 2°C à 60% ± 5% d'humidité relative (RH)

Pour attester de l'impact possible du bouchon sur la stabilité, la moitié des flacons étaient stockés retournés assurant un contact bouchon/solution, alors que l'autre moitié des flacons étaient stockés droits.

A J₀, des solutions de noradrénaline dosées à 0,5 mg/mL et à 0,2 mg/mL diluées dans le SSI ont été préparées à partir d'ampoules à 2 mg/mL en volume suffisant pour remplir manuellement 150 seringues Luer-Lock de 50 mL en polypropylène (PP)

(Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France) à 0,5 mg/mL de noradrénaline, 150 seringues de 50 mL à 0,2 mg/mL et 150 seringues de 20 mL à 0,2 mg/mL et 300 flacons standards en COC de 50 mL à 0,5 mg/mL, 300 flacons standards de 50 mL à 0,2 mg/mL et 300 flacons standards de 20 mL à 0,2 mg/mL à l'aide de la station M1 Filling Station (Aseptic Technologies, Gembloux, Belgique) connectée à une pompe péristaltique (Pompe Flexicon PF6).

A chaque temps d'analyse prévu, la concentration en noradrénaline a été déterminée dans 3 flacons stockés droits, 3 flacons stockés retournés et 3 seringues. Les concentrations ont été exprimées comme le ratio en % entre la concentration déterminée le jour d'analyse et la concentration initiale (C_t/C_0 , %). La limite de stabilité a été fixée à 90%. Les concentrations des flacons stockés droits et retournés ont été comparées à la concentration dans la seringue à l'aide d'un test de Student, une correction pour comparaison multiple par la méthode de Holm Sidak a été réalisée. La différence était considérée comme significative avec un risque α de 5%.

Des tests de stérilité (3) et de contamination particulaire (4) ont été effectués selon les spécifications de la Pharmacopée Européenne afin de garantir le caractère injectable de la préparation. S'agissant de conditionnements de moins de 100mL, le nombre total de particules par conditionnement doit être inférieur à 6000 pour les particules \geq à 10 μ m et/ou inférieur à 600 pour les particules \geq à 25 μ m par flacon ou seringue.

Un suivi du pH a été réalisé (mesure à J_0 et à la date de fin d'étude).

3.3. Résultats

3.3.1. Validation de la méthode HPLC/UV

Les chromatogrammes obtenus lors de la validation de la méthode et des essais de dégradations forcées sont présentés en figure 70.

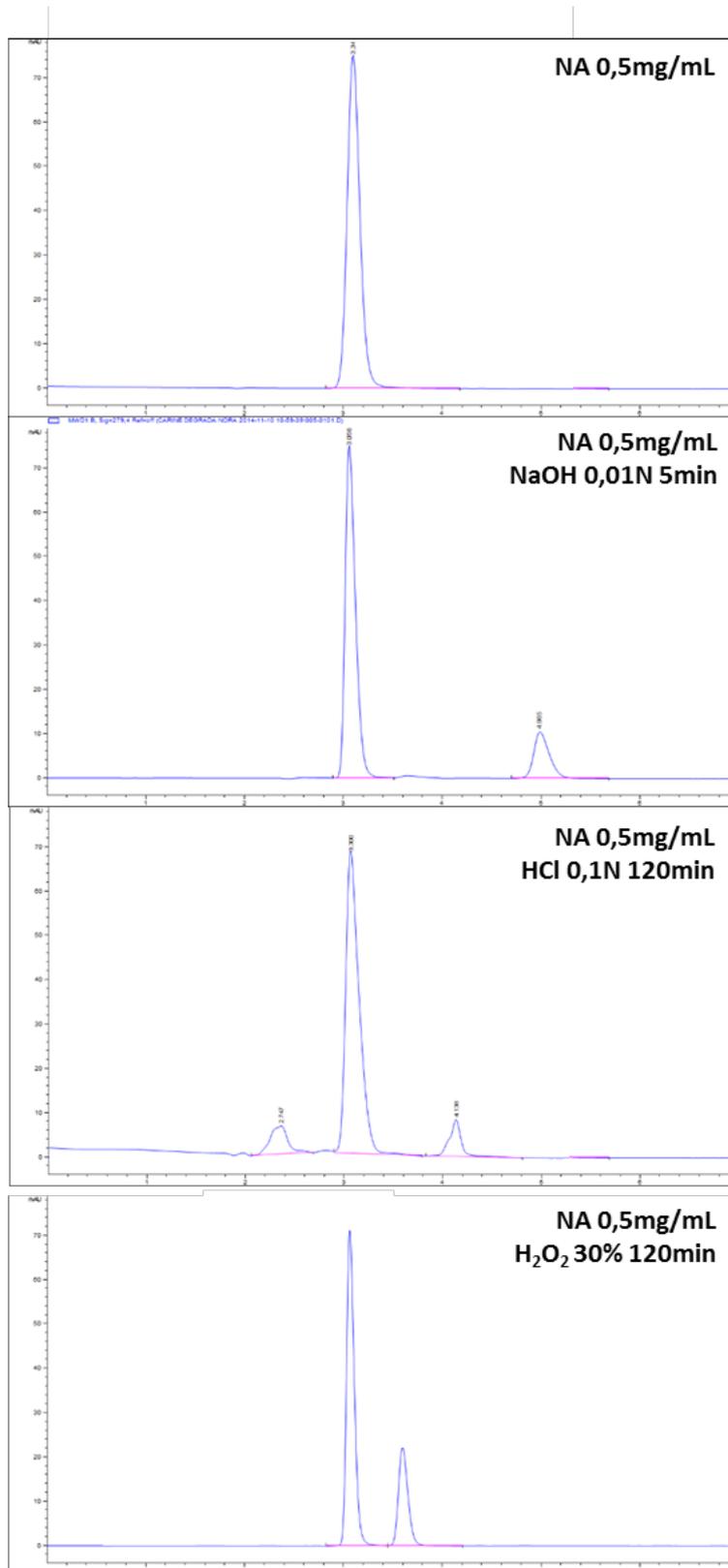


Figure 70 : Chromatogrammes obtenus lors de la validation de la méthode et des essais de dégradations forcées sur une solution de noradrénaline à 0,5mg/mL

Lors des études de dégradations forcées, aucune interférence entre la noradrénaline et ses produits de dégradation n'a été observée sur les chromatogrammes. Les résultats de la validation analytique de la méthode sont résumés dans le tableau 38.

Pour l'ensemble des points de gamme (que cela soit pour la concentration cible à 0,2mg/mL ou pour celle à 0,5mg/mL), l'erreur totale est au maximum de 5,54%.

Tableau 38 : Biais, Fidélité Intermédiaire et Erreur totale calculés pour les différents points de la gamme de dosage de la solution de noradrénaline

Valeur cible : Noradrénaline
0,2 mg/mL

Concentration (mg/mL)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
0,275	-2,29%	2,78%	5,07%
0,225	-1,72%	1,76%	3,48%
0,175	-2,24%	1,63%	3,87%
0,125	0,24%	4,00%	4,24%
0,075	1,13%	4,41%	5,54%

Valeur cible : Noradrénaline
0,5mg/mL

Concentration (mg/mL)	Biais (%)	F. Intermédiaire (%)	Erreur totale (%)
0,9	-0,84%	1,43%	2,27%
0,7	1,88%	3,63%	5,51%
0,5	0,74%	3,81%	4,55%
0,3	1,00%	3,74%	4,73%
0,15	0,82%	3,61%	4,43%

3.3.2. Etudes de stabilité

3.3.2.1. Stabilité de la solution à 0,5 mg/mL dans des conditionnements de 50 mL

Les résultats des différents dosages sont donnés dans les tableaux 39, 40 et 41 et résumés dans les figures 71, 72 et 73.

Tableau 39 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,5 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à -20°C (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	99,58	0,23	99,09	0,41	98,60	1,16
2	99,69	0,12	101,39*	1,28	98,77	1,17
3	99,68	0,12	101,88*	1,52	98,58	1,28
4	100,21	0,31	100,10	1,23	98,80*	1,06
7	101,04	0,15	103,31*	0,37	99,64*	0,25
14	100,04	0,46	100,35	0,65	99,70	0,27
21	100,39	0,32	100,37	0,44	99,45	0,22
28	99,72	0,30	100,74	0,23	99,88	0,56
60	100,19	0,19	100,04	0,68	100,03	0,28
90	99,79	0,07	99,40	0,13	99,42	0,21
180	99,11	0,29	99,34	0,37	99,43	0,25
270	98,68	0,85	99,21	0,42	99,44	0,22
365	98,93	0,27	99,42	0,39	99,23	0,79

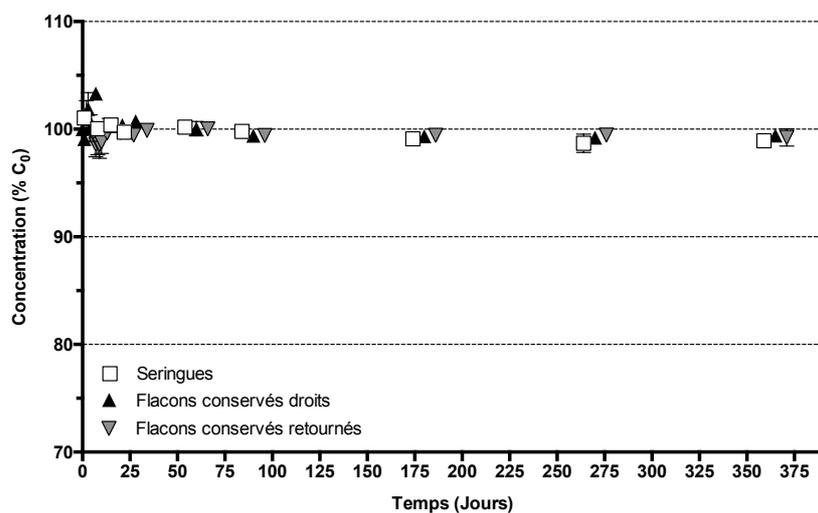


Figure 71 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,5 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 50 mL à -20°C en fonction de la durée de conservation

Tableau 40 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,5 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à +5°C (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	99,42	0,20	100,50*	0,52	100,35*	0,22
2	99,69	0,06	99,31	0,04	99,71	0,21
3	99,54	0,20	100,39*	0,09	100,33*	0,07
4	99,12	0,66	99,83*	0,08	100,22*	0,12
7	98,84	0,26	100,01*	0,06	100,45*	0,07
14	99,86	0,27	99,82	0,05	99,91	0,08
21	99,49	0,13	99,88	0,29	100,23*	0,02
28	99,48	0,38	100,26*	0,05	100,33*	0,03
60	99,55	0,22	99,72	0,30	100,22*	0,15
90	99,30	0,06	99,70	0,13	99,95*	0,08
180	98,51	0,21	99,58*	0,19	99,83*	0,33
270	99,08	0,38	99,28	0,27	99,27	0,17
365	98,75	0,23	99,40*	0,14	99,18	0,26

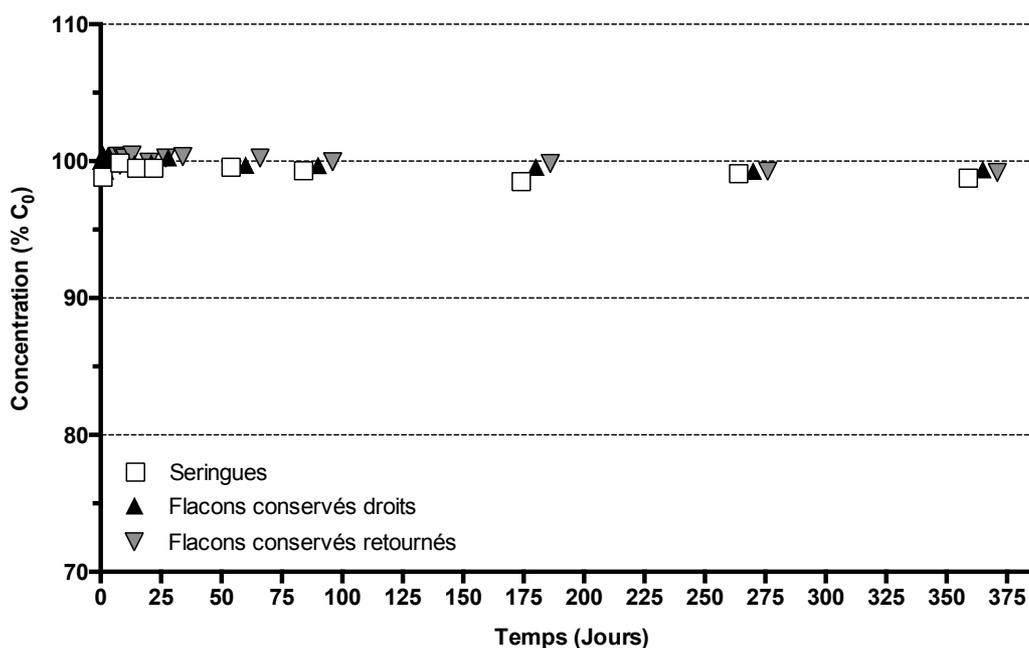


Figure 72 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,5 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 50 mL à + 5°C en fonction de la durée de conservation

Tableau 41 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,5 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à +25°C/60%RH (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	99,60	0,21	98,50	1,41	100,15	0,10
2	100,06	0,39	100,08	0,07	100,06	0,16
3	99,52	0,14	100,16	0,65	100,13	0,11
4	99,05	0,19	100,25*	0,39	99,76	0,09
7	99,31	0,14	100,59*	0,03	100,18	0,20
14	98,84	0,06	100,41*	0,09	100,07*	0,03
21	99,22	0,17	100,07	0,04	100,07	0,39
28	98,64	0,19	99,91*	0,14	99,60	0,17
60	98,10	0,12	99,64*	0,23	99,34*	0,05
90	96,68	0,10	98,34*	0,09	98,28*	0,07
120	95,29	0,76	98,25*	0,44	98,13*	0,05
150	92,89	0,02	98,49*	0,34	98,06*	0,65
180	92,59	0,38	97,12*	0,12	96,98*	0,46
210	89,33	0,87	96,53*	0,11	96,29*	0,05
240	87,83	0,35	96,93*	0,22	96,50*	0,82
270	87,57	0,82	96,31*	0,23	95,26*	0,33
300	86,45	0,65	96,09*	0,19	94,28*	0,33
330	85,41	0,62	94,69*	0,69	93,98*	0,87
365	83,32	0,76	93,89*	0,80	93,54*	1,89

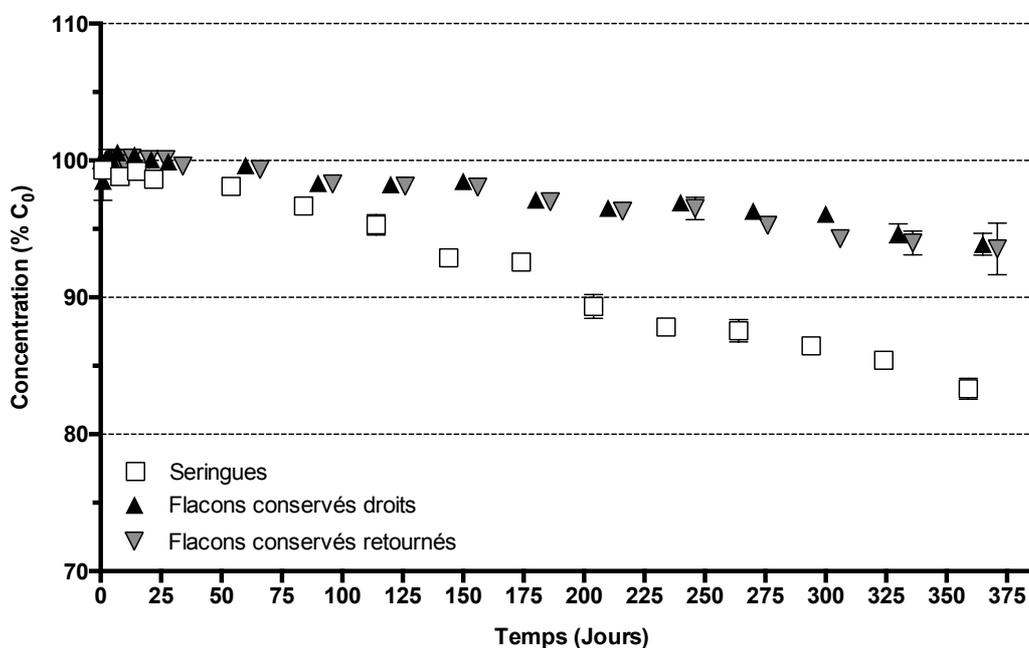


Figure 73 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,5 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 50 mL à +25°C/60%RH en fonction de la durée de conservation

La solution de noradrénaline à 0,5 mg/mL conservée dans les conditionnements de 50 mL est stable pendant 1 an lors de la conservation à - 20°C (respectivement $98,93 \pm 0,70\%$, $99,42 \pm 0,39\%$ et $99,23 \pm 0,79\%$ pour les seringues, flacons stockés droits et retournés).

De même, cette solution de noradrénaline est stable pendant 1 an lors de la conservation à + 5°C (respectivement $98,75 \pm 0,23\%$, $99,40 \pm 0,14\%$ et $99,18 \pm 0,26\%$ pour les seringues, flacons stockés droits et retournés).

Lors de la conservation en enceinte climatique (+25°C/60%RH) de la solution de noradrénaline à 0,5 mg/mL conservée dans les conditionnements de 50 mL, on observe une perte de la stabilité à J210 pour les seringues, selon nos critères définis de limite de stabilité à 90%, ($89,33 \pm 0,87\%$). Les flacons Crystal[®] sont toujours stables à J365 (respectivement $93,89 \pm 0,80\%$ et $93,54 \pm 1,89\%$ pour les flacons droits et retournés).

3.3.2.2. Stabilité de la solution à 0,2 mg/mL dans des conditionnements de 50 mL

Les résultats des différents dosages sont donnés dans les tableaux 42, 43 et 44 et résumés dans les figures 74, 75 et 76.

Tableau 42 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à -20°C (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	99,82	0,37	99,56	0,67	98,60	1,16
2	99,36	0,10	100,08	0,28	98,77	1,17
3	99,73	0,15	99,60	1,01	98,58	1,28
4	99,78	0,10	100,31	0,06	98,80	1,06
7	99,55	0,30	100,19	0,14	99,64	0,25
14	99,88	0,51	98,13*	0,08	100,09	0,16
21	99,91	0,28	100,48	0,06	99,83	0,27
28	99,88	0,26	100,28	0,19	100,63	0,61
60	99,66	0,04	99,98	0,59	99,46	0,92
90	99,45	0,11	100,00	0,49	99,60	0,40
180	99,37	0,23	99,23	0,56	99,12	0,30
270	99,01	1,05	99,34	0,29	99,80	0,05
365	98,92	0,98	98,73	0,32	99,09	0,60

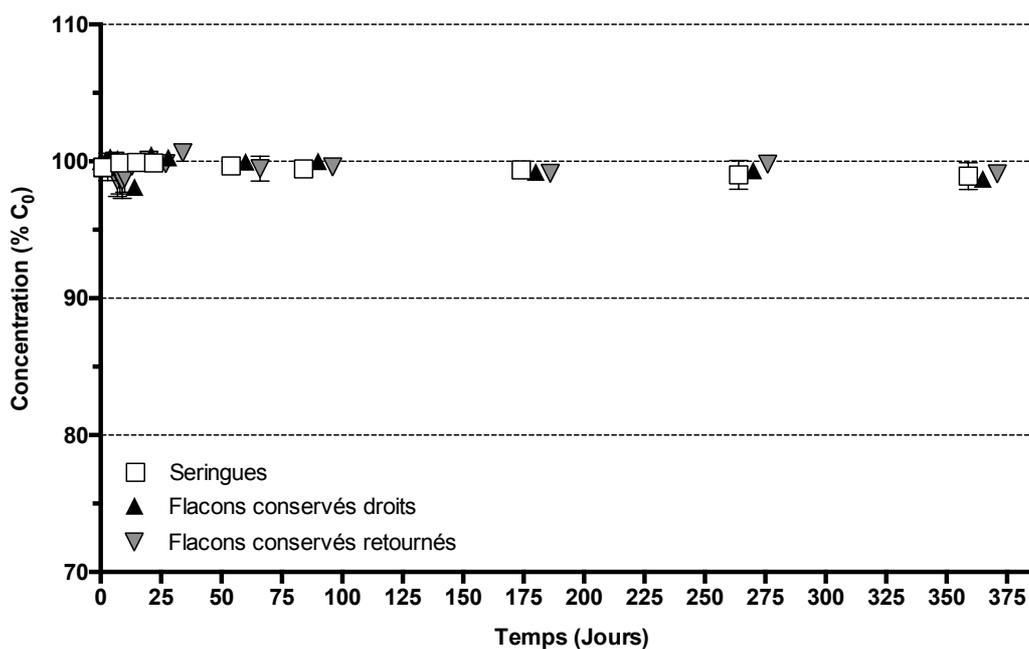


Figure 74 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 50 mL à -20°C en fonction de la durée de conservation

Tableau 43 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à +5°C (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	100,32	0,53	100,06	0,09	99,56*	0,14
2	99,33	0,46	99,12	0,05	99,47	0,08
3	99,27	0,51	98,83	0,10	99,15	0,07
4	99,68	0,53	99,86	0,20	99,45	0,20
7	99,36	0,71	100,55*	0,83	99,46	0,18
14	100,19	0,20	100,62	0,18	100,72	0,12
21	99,67	0,31	99,38	0,24	100,30	0,13
28	99,51	0,41	99,84	0,60	100,19	0,14
60	99,75	0,21	99,89	0,61	100,04	0,11
90	99,16	0,28	98,82	0,17	99,76	0,17
180	99,31	0,03	98,59	0,01	99,74	0,25
270	99,56	0,07	98,07*	0,96	99,36	0,14
365	99,42	0,51	99,71	0,27	99,33	0,21

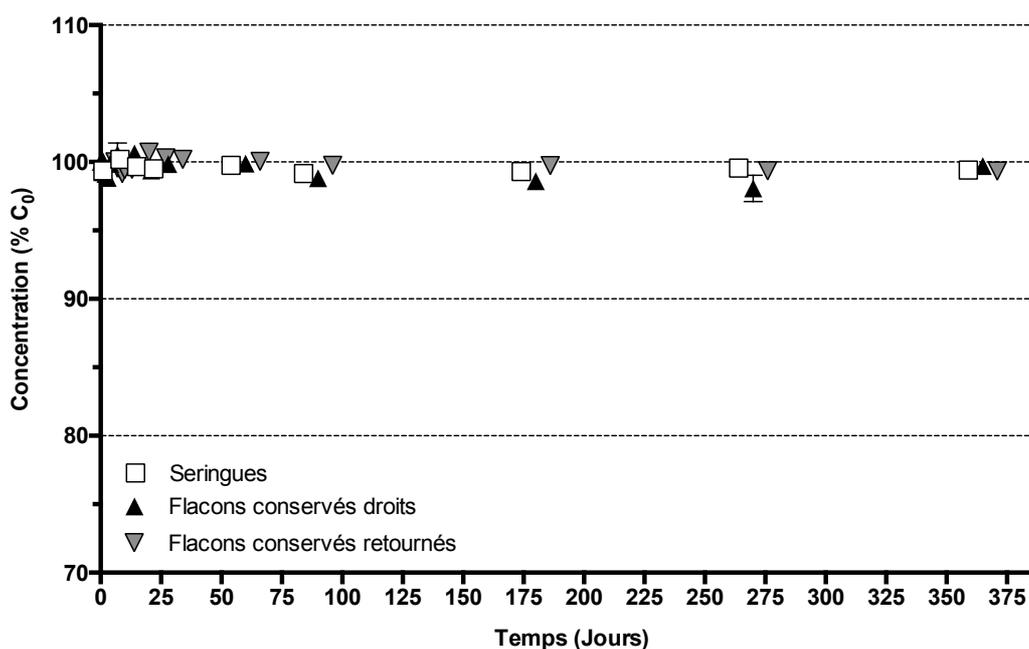


Figure 75 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 50 mL à + 5°C en fonction de la durée de conservation

Tableau 44 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 50mL) obtenus lors de la conservation à +25°C/60%RH (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	99,74	0,08	99,86	0,18	100,15	0,10
2	101,16	1,36	99,03*	0,11	100,06	0,16
3	99,71	0,30	99,37	0,08	100,13	0,11
4	99,61	0,11	99,30	1,06	99,76	0,09
7	99,76	0,09	99,71	0,71	100,18	0,20
14	98,68	0,33	98,97	0,08	100,04*	0,26
21	98,26	0,32	99,09	0,34	99,84*	0,10
28	98,43	0,54	99,25	0,19	99,80*	0,44
60	96,81	0,12	99,05*	0,01	98,78*	0,27
90	94,87	0,35	98,05*	0,01	97,39*	0,04
150	91,36	0,91	96,09*	0,47	96,23*	1,15
180	89,98	0,83	93,21*	0,64	94,18*	0,03
210	89,78	0,82	93,09*	0,52	93,82*	0,24
240	89,19	0,09	92,60*	1,26	92,89*	0,56
270	86,58	1,15	92,22*	0,61	92,87*	0,52
300	85,60	1,12	91,91*	0,52	91,93*	0,38
330	85,33	1,14	90,99*	0,48	90,98*	0,38
365	84,93	0,91	90,94*	0,57	89,93*	0,38

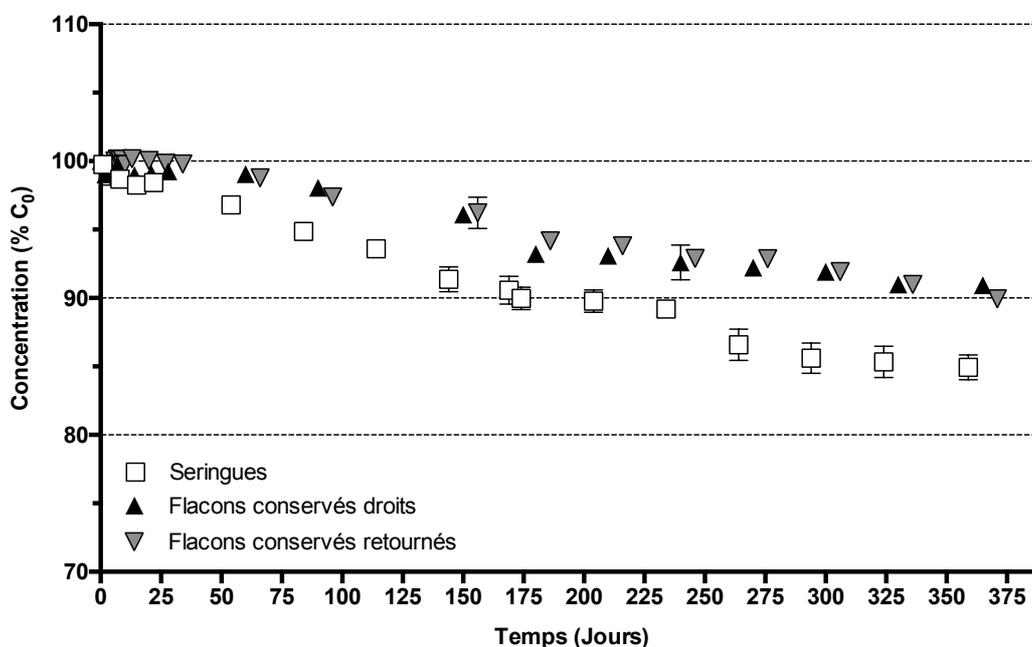


Figure 76 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 50 mL à +25°C/60%RH en fonction de la durée de conservation

La solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL conservée dans les conditionnements de 50 mL est stable pendant 1 an lors de la conservation à - 20°C (respectivement $98,82 \pm 0,98\%$, $98,73 \pm 0,32\%$ et $99,09 \pm 0,60\%$ pour les seringues, flacons stockés droits et retournés).

De même, cette solution de noradrénaline est stable pendant 1 an lors de la conservation à +5°C (respectivement $99,42 \pm 0,21\%$, $99,71 \pm 0,27\%$ et $99,33 \pm 0,21\%$ pour les seringues, flacons stockés droits et retournés).

Lors de la conservation en enceinte climatique (+25°C/60%RH) de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL conservée dans les conditionnements de 50 mL, on observe une perte de la stabilité ($89,98 \pm 0,83\%$) à J180 pour la seringue. La solution de noradrénaline est toujours stable à J365 pour les flacons Crystal[®] conservés droits ($90,94 \pm 0,57\%$), en revanche à ce temps, les flacons conservés retournés ($89,93 \pm 0,38\%$) ne sont plus considérés comme étant stable selon nos critères définis de limite de stabilité à 90%.

3.3.2.3. Stabilité de la solution à 0,2 mg/mL dans des conditionnements de 20 mL

Les résultats des différents dosages sont donnés dans les tableaux 45, 46 et 47 et résumés dans les figures 77, 78 et 79.

Tableau 45 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 20mL) obtenus lors de la conservation à -20°C (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	100,43	0,53	98,60*	1,16	100,23	0,07
2	99,93	0,22	98,77	1,17	100,07	0,16
3	99,94	0,69	98,58	1,28	99,87	0,02
4	99,95	0,07	98,80	1,06	100,17	0,19
7	100,85	0,20	99,64	0,25	100,13	0,20
14	100,14	0,17	100,30	0,33	99,76	0,38
21	100,04	0,64	100,60	0,16	99,45	0,57
28	100,34	0,17	100,16	0,35	99,60	0,14
60	100,49	0,54	100,87	1,28	100,68	0,04
90	99,95	0,09	99,73	0,20	99,72	0,43
180	99,53	0,21	99,23	0,56	99,12	0,30
270	99,11	0,63	99,43	0,56	99,47	0,28
365	98,91	0,45	99,42	0,78	99,40	0,27

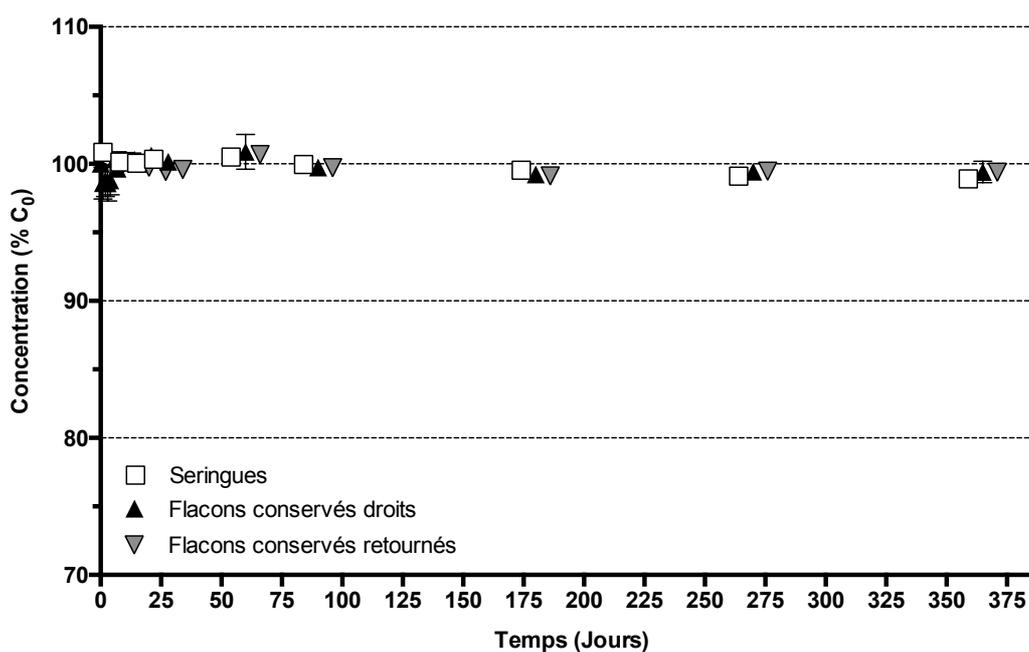


Figure 77 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 20 mL à -20°C en fonction de la durée de conservation

Tableau 46 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 20mL) obtenus lors de la conservation à +5°C (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	100,33	0,93	101,52*	0,74	101,84*	0,01
2	100,10	0,12	100,31	0,71	99,95	0,14
3	99,80	0,10	100,04	0,10	99,81	0,06
4	100,17	0,15	100,33	0,13	100,20	0,03
7	100,68	0,18	100,56	0,42	100,56	0,42
14	100,31	0,37	100,51	0,10	100,60	0,07
21	100,60	0,99	100,27	0,18	100,27	0,27
28	99,99	0,12	100,14	0,32	99,78	0,15
60	99,78	0,07	101,57*	0,63	99,70	0,25
90	99,55	0,06	99,89	0,09	99,77	0,06
180	98,18	0,22	99,25*	0,01	99,44*	0,66
270	99,01	1,03	99,09	0,85	99,38	0,22
365	99,43	0,20	99,10	0,22	99,01	0,56

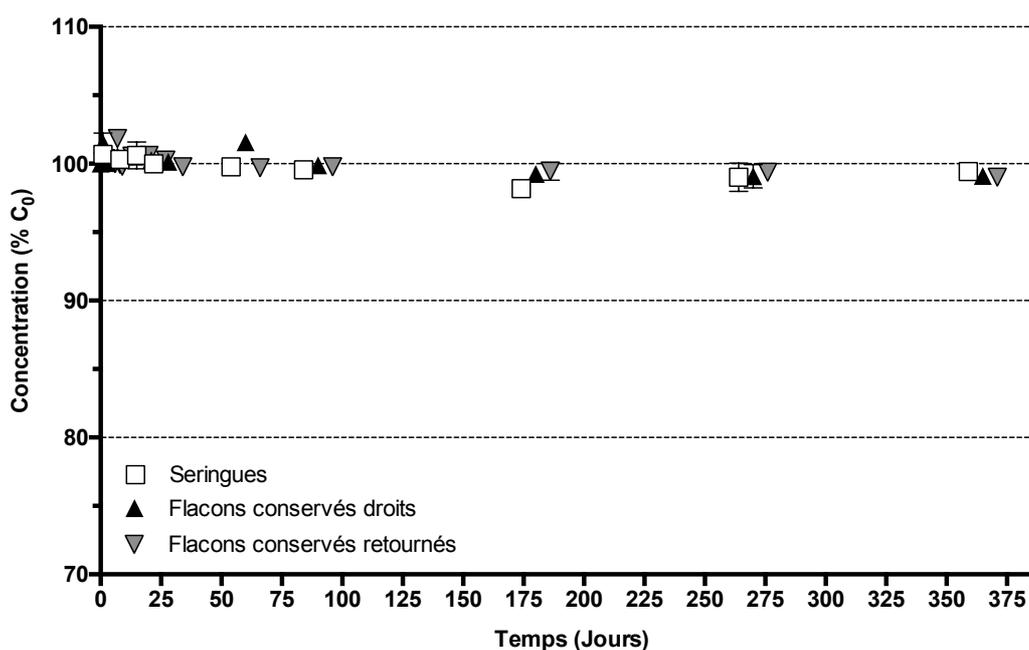


Figure 78 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 20 mL à + 5°C en fonction de la durée de conservation

Tableau 47 : Résultats des dosages de la solution de noradrénaline (0,2 mg/mL, conditionnement de 20mL) obtenus lors de la conservation à +25°C/50%RH (* = différence significative)

Jours	Seringues		Flacons droits		Flacons retournés	
	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)	Concentration (Ct/C0, %)	Ecart-type (%)
0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
1	100,77	0,14	100,15	0,10	99,14	0,05
2	100,16	0,13	100,06	0,16	100,22	0,15
3	100,29	0,13	100,13	0,11	99,96	0,27
4	100,10	0,24	99,76	0,09	100,23	0,29
7	99,92	0,26	100,18	0,20	100,17	0,24
14	99,46	0,08	100,27	0,22	100,23	0,09
21	99,26	0,17	100,04	0,05	99,82	0,18
28	98,98	0,40	99,71	0,22	99,28	0,14
60	97,27	0,11	99,42*	0,15	99,30*	0,19
90	95,84	0,07	99,38*	0,22	98,21*	0,64
150	93,41	0,66	99,22*	0,28	98,26*	0,63
180	91,21	0,45	94,83*	0,39	94,18*	0,66
210	89,86	1,13	94,17*	0,45	93,20*	1,66
240	88,10	0,69	93,14*	0,25	93,02*	1,43
270	86,79	0,91	92,48*	0,81	92,86*	1,66
300	86,41	0,99	91,47*	0,15	92,16*	0,22
330	85,15	0,88	90,90*	0,25	91,57*	0,67
365	84,30	1,66	90,46*	0,49	90,19*	1,25

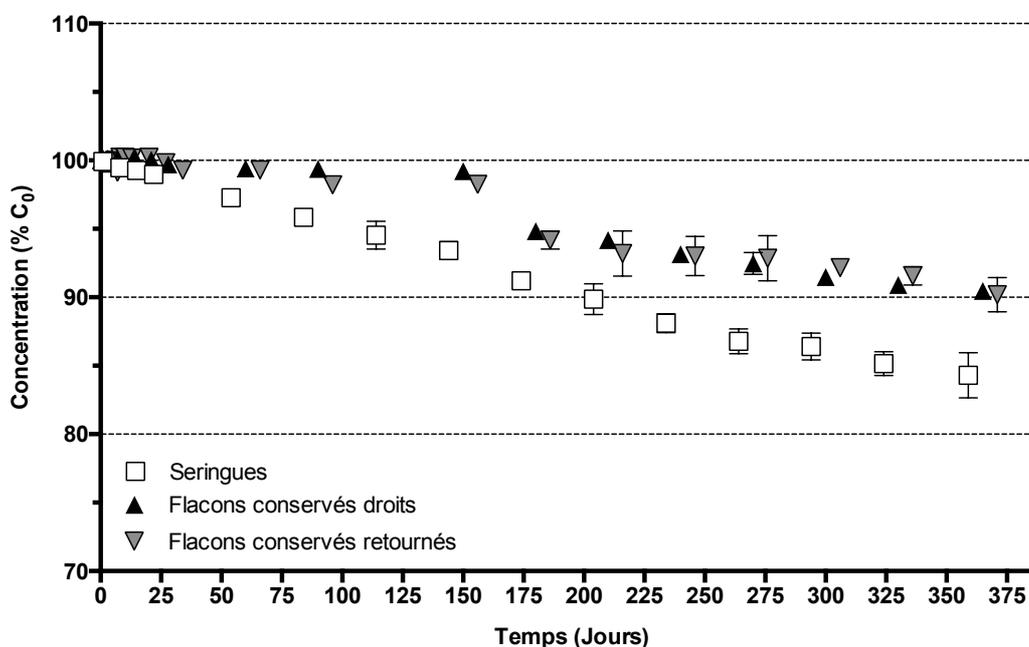


Figure 79 : Stabilité de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL en seringues et en flacons Crystal® de 20 mL à 25°C/60%RH en fonction de la durée de conservation

La solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL conservée dans les conditionnements de 20 mL est stable pendant 1 an lors de la conservation à - 20°C (respectivement $98,91 \pm 0,45\%$, $99,42 \pm 0,78\%$ et $99,40 \pm 0,27\%$ pour les seringues, flacons stockés droits et retournés).

De même, cette solution de noradrénaline est stable pendant 1 an lors de la conservation à +5°C (respectivement $99,43 \pm 0,20\%$, $99,10 \pm 0,22\%$ et $99,01 \pm 0,56\%$ pour les seringues, flacons stockés droits et retournés).

Lors de la conservation en enceinte climatique (+25°C/60%RH) de la solution de noradrénaline à 0,2 mg/mL conservée dans les conditionnements de 20 mL, on observe une perte de la stabilité ($89,86 \pm 1,13\%$) à J210 pour la seringue et à J365 pour les flacons Crystal[®] (respectivement $90,46 \pm 0,49\%$ et $90,19 \pm 0,25\%$ pour les flacons stockés droits et retournés).

3.3.2.4. Impact du volume de conditionnement sur la stabilité de la solution de noradrénaline

Les résultats obtenus lors de la conservation de la solution de noradrénaline dosée à 0,2mg/mL dans des conditionnements de 20mL et de 50mL sont synthétisés dans la figure 80.

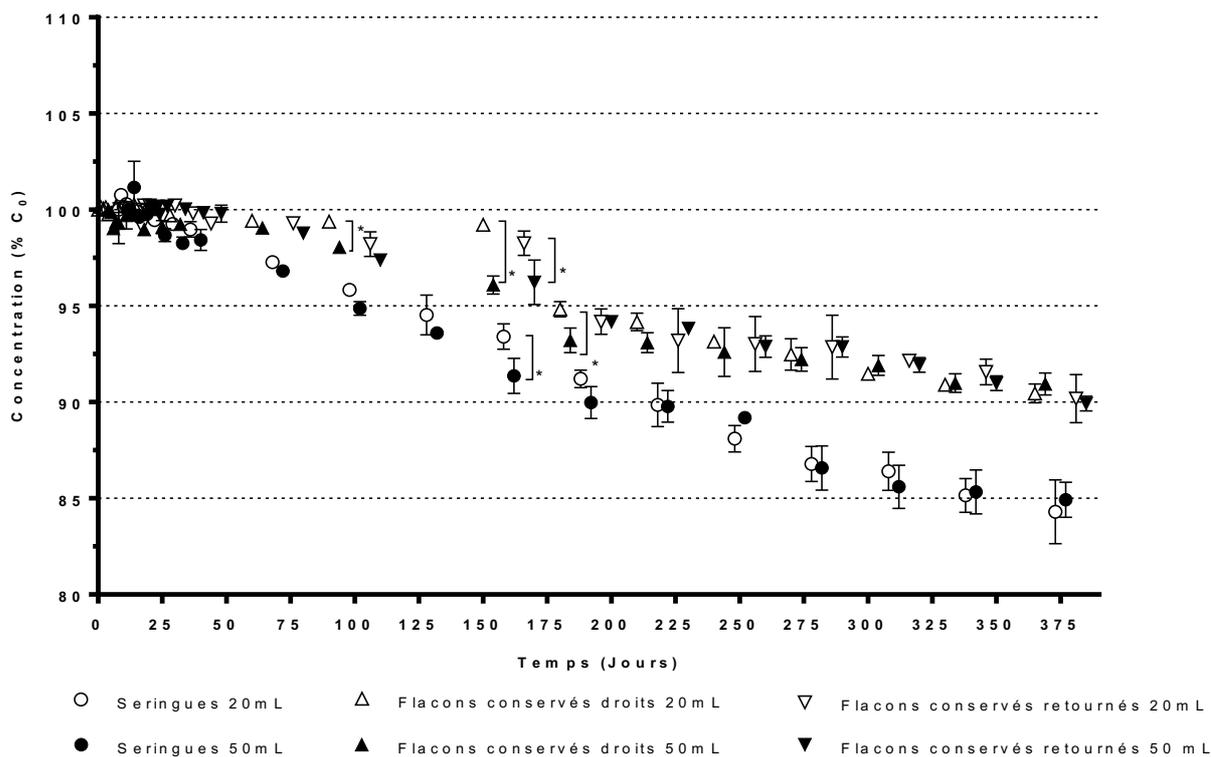


Figure 80 : Comparaison des stabilités de la solution de noradrénaline (0,2mg/mL) dans des conditionnements de 20mL et de 50mL (*=différence significative au risque $\alpha=5\%$)

Les résultats ne mettent pas en évidence l'impact du volume de conditionnement sur la stabilité de la molécule. On observe ponctuellement des différences (J150 pour les seringues ; J90, J150 et J180 pour les flacons conservés droits et J150 pour les flacons conservés retournés) sans tendance franche sur le long terme (pas de différence significative pour l'ensemble des conditionnements de J210 à J365).

3.3.2.5. Impact de la concentration sur la stabilité de la solution de noradrénaline

Les résultats obtenus lors de la conservation de la solution de noradrénaline dosée à 0,2mg/mL et à 0,5mg/mL dans des conditionnements de 50mL sont synthétisés dans la figure 81.

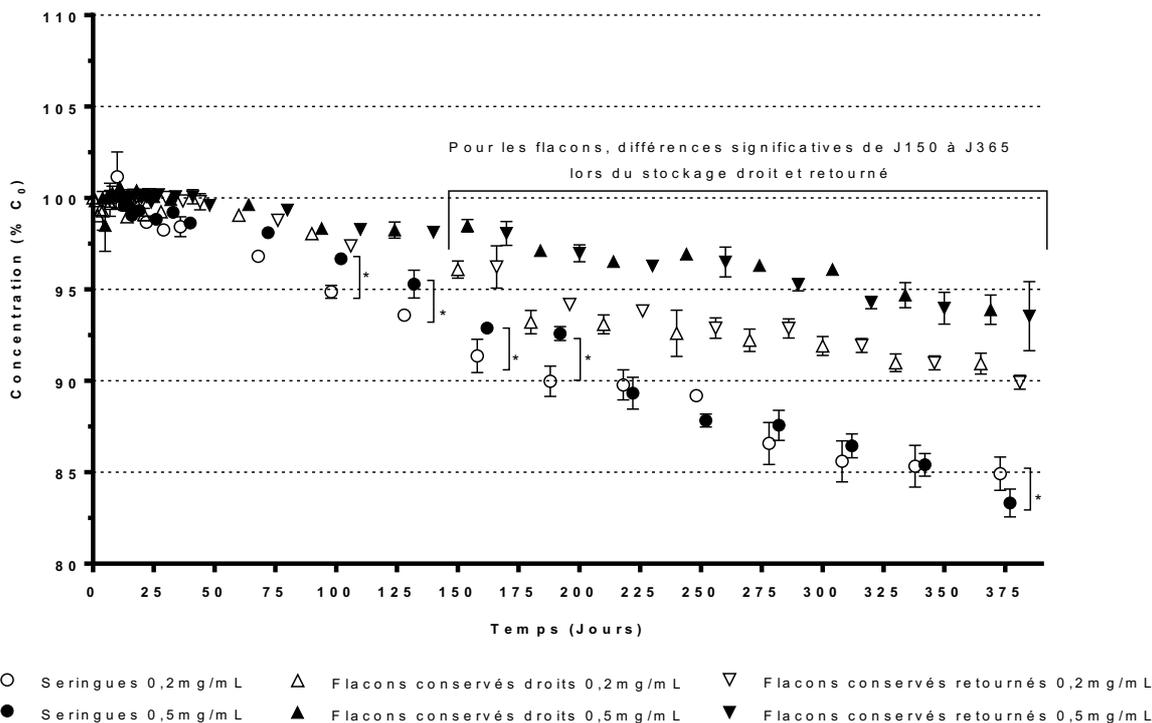


Figure 81 : Comparaison des stabilités de la solution de noradrénaline dosée à 0,2mg/mL et à 0,5mg/mL dans des conditionnements de 50mL (*=différence significative au risque $\alpha=5\%$)

Lors du conditionnement en flacon Crystal[®], la concentration initiale de la solution de noradrénaline impacte sur la stabilité. La perte de concentration en % est, en effet, toujours plus importante lors du conditionnement de la solution dosée à 0,2mg/mL que pour la solution dosée à 0,5mg/mL. Cette différence significative est observable sur toute la période de J150 à J365, et ce, lors du stockage des flacons en position droite et retournée.

Pour les seringues, l'effet de la concentration est plus difficile à démontrer. Des différences significatives sont observables à J90, J120, J150 et J180, sans réel impact sur la stabilité globale (différences non significatives de J210 à J330). Les concentrations à J365 sont significativement différentes mais restent très proches (différence de 1,61%).

3.3.3. Evolution du pH

Les données de pH sont synthétisées dans le tableau 48.

Tableau 48 : Evolution du pH au cours de la conservation des solutions de noradrénaline

	<u>NA 0,5 mg/mL / 50mL</u>		<u>NA 0,2 mg/mL / 50mL</u>		<u>NA 0,2 mg/mL / 20mL</u>	
	pH J0	pH J365	pH J0	pH J365	pH J0	pH J365
Conservation : + 25°C / 60%RH						
Seringues	3,35 ± 0,03	3,47 ± 0,02	3,60 ± 0,00	3,64 ± 0,02	3,60 ± 0,00	3,61 ± 0,02
Flacons droits	3,35 ± 0,03	3,39 ± 0,01	3,60 ± 0,00	3,63 ± 0,02	3,60 ± 0,00	3,62 ± 0,03
Flacons retournés	3,35 ± 0,03	3,42 ± 0,02	3,60 ± 0,00	3,62 ± 0,02	3,60 ± 0,00	3,65 ± 0,05
Conservation : + 5°C						
Seringues	3,35 ± 0,03	3,41 ± 0,03	3,60 ± 0,00	3,56 ± 0,01	3,60 ± 0,00	3,58 ± 0,02
Flacons droits	3,35 ± 0,03	3,36 ± 0,02	3,60 ± 0,00	3,57 ± 0,01	3,60 ± 0,00	3,59 ± 0,02
Flacons retournés	3,35 ± 0,03	3,36 ± 0,02	3,60 ± 0,00	3,56 ± 0,01	3,60 ± 0,00	3,59 ± 0,02
Conservation : - 20°C						
Seringues	3,35 ± 0,03	3,37 ± 0,01	3,60 ± 0,00	3,60 ± 0,01	3,60 ± 0,00	3,60 ± 0,01
Flacons droits	3,35 ± 0,03	3,34 ± 0,01	3,60 ± 0,00	3,60 ± 0,00	3,60 ± 0,00	3,59 ± 0,01
Flacons retournés	3,35 ± 0,03	3,35 ± 0,02	3,60 ± 0,00	3,60 ± 0,01	3,60 ± 0,00	3,60 ± 0,02

Il n'y a pas d'évolution du pH des solutions de noradrénaline, pendant un an de conservation, pour tous les conditionnements et toutes les conditions de température testées.

3.3.4. Observation macroscopique et contamination particulaire

Les résultats des comptages particulaires sont donnés dans le tableau 49.

Tableau 49 : Résultats par conditionnement des mesures de la contamination particulaire (le résultat noté en gras est non conforme aux critères de la Pharmacopée Européenne (4))

	<u>NA 0,5 mg/mL / 50mL</u>		<u>NA 0,2 mg/mL / 50mL</u>		<u>NA 0,2 mg/mL / 20mL</u>	
	Particules ≥ 10 µm	Particules ≥ 25 µm	Particules ≥ 10 µm	Particules ≥ 25 µm	Particules ≥ 10 µm	Particules ≥ 25 µm
Conservation : + 25°C / 60%RH						
Seringues	3394 ± 1485	1215 ± 613	1534 ± 222	524 ± 98	2777 ± 1640	496 ± 357
Flacons droits	2133 ± 548	32 ± 11	1427 ± 128	61 ± 38	893 ± 205	15 ± 7
Flacons retournés	3418 ± 852	108 ± 126	1308 ± 484	8 ± 6	1117 ± 270	45 ± 29
Conservation : + 5°C						
Seringues	39 ± 22	47 ± 52	54 ± 23	20 ± 8	42 ± 46	5 ± 8
Flacons droits	69 ± 27	3 ± 3	59 ± 14	5 ± 4	23 ± 4	2 ± 1
Flacons retournés	47 ± 5	4 ± 4	42 ± 25	17 ± 16	21 ± 4	2 ± 1
Conservation : - 20°C						
Seringues	56 ± 17	7 ± 5	68 ± 25	1 ± 3	2 ± 1	0 ± 0
Flacons droits	43 ± 26	16 ± 17	16 ± 9	2 ± 2	15 ± 5	1 ± 1
Flacons retournés	49 ± 13	2 ± 3	46 ± 12	6 ± 15	6 ± 3	0 ± 1

Les analyses réalisées montrent une augmentation importante de la charge particulaire lors de la conservation à +25°C/60%RH par rapport à la conservation à +5°C et -20°C.

Il y a en moyenne, pour tous les conditionnements, 60 fois moins de particules de 10 µm lors de la conservation à + 5°C qu'à +25°C/60%RH.

Les seringues sont les plus touchées par l'apparition de particules, notamment les particules $\geq 25\mu\text{m}$. Les seringues de 50mL contenant la solution de noradrénaline à 0,5mg/mL sont les seules à ne pas satisfaire les critères de la Pharmacopée Européenne, il y a en effet plus de 600 particules de plus de 25µm (1215 ± 613). En accord avec la monographie, un comptage au microscope optique (non réalisé) devrait confirmer la charge particulaire avant de statuer définitivement sur le caractère injectable de la préparation.

Cette contamination particulaire excessive à température ambiante est à corrélérer à l'observation macroscopique mettant en évidence une coloration brun-gris de la solution et l'existence de particules visibles dans les 2 conditionnements (figure 82). La coloration des flacons a été détectée, pour les 2 positions de conservation, plus tardivement (T=4 mois) que pour les seringues (T=3 mois). Au temps de conservation un an, elle est cependant à peu près de même intensité que celle des seringues. Ces colorations restent incrustées dans les matériaux de conditionnement après lavage des seringues ou flacons.

En pratique, ces seringues et ces flacons ne peuvent pas être administrés dans les services.

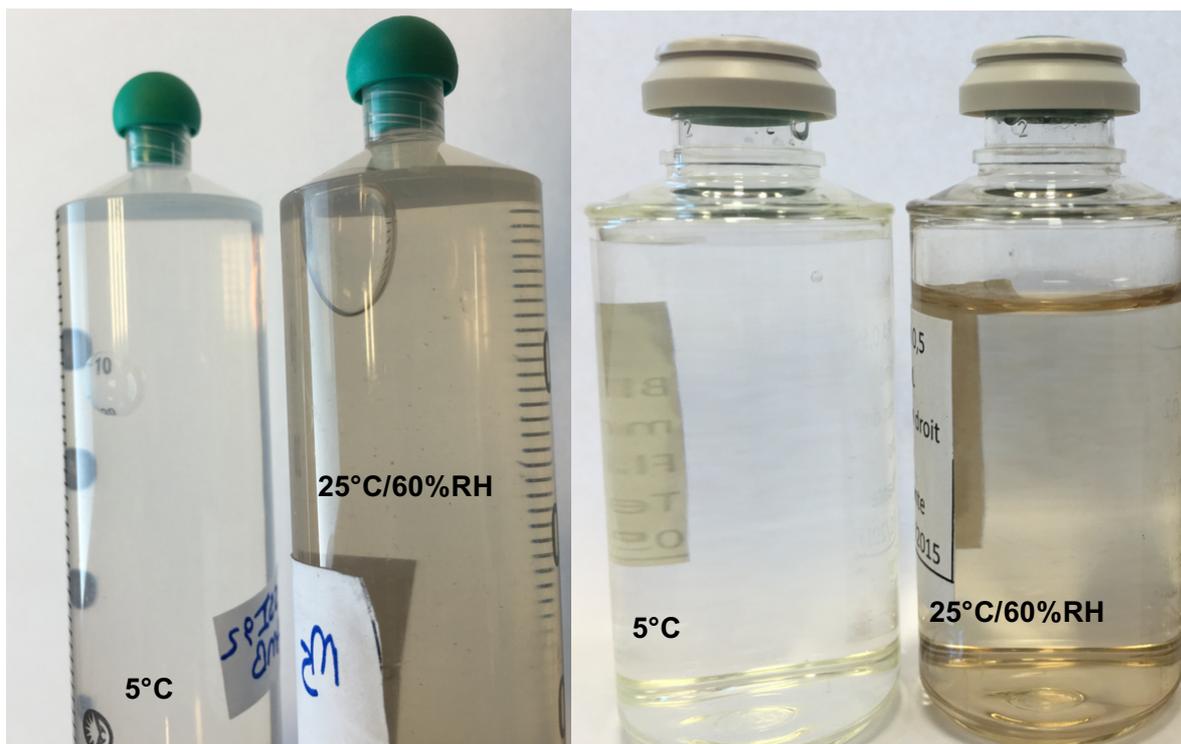


Figure 82 : Différence de coloration lors du stockage des flacons et des seringues à +5°C et à +25°C/60%RH d'une solution de noradrénaline (0,5mg/mL)

3.3.5. Tests de stérilité

Au terme de l'étude, tous les conditionnements demeurent stériles à J365 dans toutes les conditions de conservation.

3.4. Discussion

Ces études sont les premières à évaluer les stabilités de la noradrénaline à 0,2 et 0,5 mg/mL dans deux types et deux volumes de conditionnements (seringues et flacons Crystal[®] de 20 et 50mL).

Aucune publication ne présente des résultats pour les concentrations étudiées qui sont cependant celles utilisées en France, mais qui ne correspondent pas aux pratiques et aux publications nord-américaines. Les habitudes américaines sont, en effet, de perfuser des volumes plus importants (en poche), à des débits plus importants, et donc, à de plus faibles concentrations. Les concentrations envisagées dans ces

articles sont ainsi beaucoup plus faibles que celles étudiées ici (4 µg/mL et 16 µg/mL (169), 8 µg/mL (170), 64 µg/mL (171,172), 16 et 40 µg/mL (173)).

Par ailleurs, les durées d'études de stabilités dans ces publications sont toujours de courte durée avec un maximum 60 jours (172).

A - 20°C et + 5°C, les solutions de noradrénaline de 0,2 et 0,5 mg/mL sont stables pendant 365 jours dans les 2 conditionnements (seringues et flacons Crystal[®]) et les deux volumes testés (20 et 50 mL). A ces deux températures de conservation (- 20°C et + 5°C), il n'y a pas d'évolution de pH, ni d'apparition de coloration et les conditionnements demeurent stériles et pratiquement exempts de particules (conformes à la Pharmacopée Européenne).

Lors de la conservation à température ambiante, même si les durées de stabilité obtenues par dosages en HPLC/UV sont importantes (stable au minimum 150 jours pour les 2 concentrations et les 2 conditionnements), la présence d'une coloration observable dès 3 et 4 mois (respectivement pour les seringues et les flacons) et la présence d'une importante contamination particulaire aux dates de fin de stabilité excluent le stockage à + 25°C/60%RH comme une condition possible de conservation en pratique hospitalière, même si la cinétique de dégradation semble plus lente lors du conditionnement en flacon Crystal[®].

Cette étude a permis l'étude de 2 facteurs pouvant impacter la stabilité de la solution de noradrénaline, le volume de conditionnement et la concentration.

Que ce soit pour les seringues et les flacons Crystal[®], le volume de conditionnement (20ml et 50mL) n'impacte pas sur la stabilité. En revanche, à volume égal, la solution de plus faible concentration (0,2mg/mL) est moins stable. L'impact de la concentration a déjà été validé pour les seringues et les poches par Velghe *et al.* en 2016 (174).

Le facteur essentiel de stabilité, retrouvé dans la littérature, est le maintien d'un pH entre 3 et 4,5 (175), ce qui est le cas tout au long de l'étude. Il est à noter qu'il n'y a pas de conservateurs dans la formulation étudiée.

Concernant la coloration, l'hypothèse initiale était la présence d'un produit d'oxydation de la noradrénaline appelé noradrénochrome présentant une coloration « brun gris » (175,176). Des analyses secondaires, effectuées par RMN, infirment cette hypothèse en excluant la présence de cette molécule dans la solution. La deuxième hypothèse, devant encore être vérifiée, serait la complexation du tartre avec le fer pouvant provenir du conditionnement.

Dans tous les cas, les profils de stabilité obtenus sont identiques lors du conditionnement en flacon Crystal[®] et en seringue à -20°C et 5°C et permettent d'envisager une période de conservation d'un an.

Afin d'exclure les difficultés liées à la décongélation de volumes importants (50 et 20mL), la conservation à 5°C serait privilégiée.

Comme pour le midazolam, la stabilité à température ambiante est plus faible et ne peut être considéré comme une condition satisfaisante au vu de la coloration et de la présence de particules. Néanmoins, la cinétique de dégradation est faible dans ces conditions de température et permet de limiter les risques liés à la rupture de la chaîne du froid dans les services.

4. Bilan des études de stabilité

A travers ces études de stabilité, nous avons mis en évidence l'absence de risques pouvant être liés à l'utilisation du flacon Crystal[®] pour la préparation en unité CIVAS de flacons de 1mL de céfuroxime (10mg/mL), de flacons de 50mL de midazolam (1mg/mL) et de flacons de 20ml et 50mL de noradrénaline (0,2 et 0,5mg/mL).

Les conditions et les durées optimales de conservations établies lors de ces études de stabilité sont :

- Solution de céfuroxime dosée à 10mg/mL en flacon Crystal[®] de 1mL
 - 365 jours à -20°C
- Solution de midazolam dosée à 1mg/mL en flacon Crystal[®] de 50mL
 - 365 jours à 5°C

- Solution de noradrénaline dosée à 0,5mg/mL en flacon Crystal[®] de 50mL
 - 365 jours à 5°C
- Solution de noradrénaline dosée à 0,2mg/mL en flacon Crystal[®] de 50mL
 - 365 jours à 5°C
- Solution de noradrénaline dosée à 0,2mg/mL en flacon Crystal[®] de 20mL
 - 365 jours à 5°C

Dans ces conditions de conservation, le conditionnement dans des seringues en PP permet d'atteindre des durées de stabilité identiques. Néanmoins, dans les cas où le produit n'est pas stable (5°C et 25°C/60%RH pour le céfuroxime ; 25°C/60%RH pour le midazolam et la noradrénaline), les stabilités sont toujours au moins aussi bonnes (céfuroxime) et meilleures pour les solutions de midazolam et de noradrénaline. Pour ces produits étudiés, d'autres conditions de conservation (-20°C pour le céfuroxime et 5°C pour le midazolam et la noradrénaline) sont envisageables. Néanmoins, pour l'avenir, cela met en évidence une possible supériorité des flacons Crystal[®] pour certains produits dans certaines conditions de conservation.

Concernant le midazolam et la noradrénaline, les solutions sont stables pendant 365 jours lors du stockage à -20°C. Cela est d'un moindre intérêt puisque les stabilités sont les mêmes à 5°C, sans comporter les difficultés de congélation et surtout de décongélation.

Ainsi, ces études sont les premières à démontrer des stabilités de préparations injectables dans des flacons Crystal[®] en COC. Par rapport à la littérature actuelle, ce sont surtout les premières études à démontrer des stabilités aussi longues, même pour des conditionnements en seringues en PP. Par l'importance et le partage des résultats, ces études peuvent participer au développement des unités CIVAS en permettant d'envisager des productions en volume important permises par des durées de stabilité longues et validées.

Par rapport à la seringue en PP, l'utilisation du flacon Crystal[®] présente un avantage logistique. Lors de la fabrication d'un lot en grande quantité, il est ainsi important de pouvoir assurer le stockage des produits en attente des demandes des services ; surtout si ce sont des produits à conserver au frais.

Les calculs de volumes montrent ainsi que le stockage, à nombre égal, de flacons Crystal[®] de 50mL par rapport à des seringues en PP de 50mL permet une économie de place de plus de 70% (figure 83). De plus, la robotisation des rangements étant en marche dans les hôpitaux, les flacons apparaissent comme plus adaptés à ce mode de stockage.

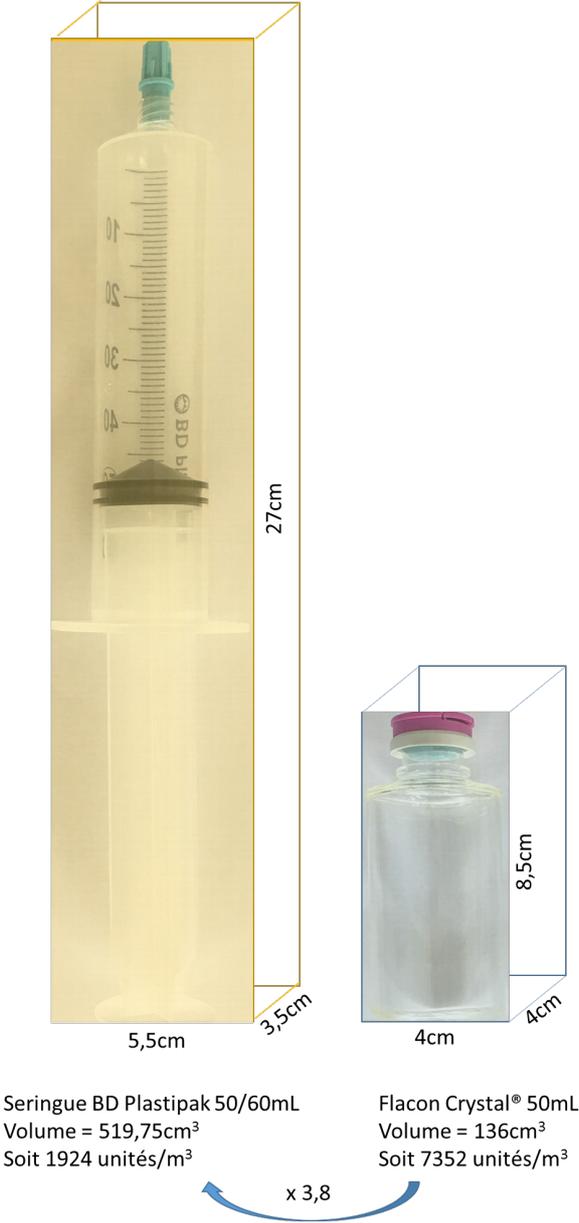


Figure 83 : Comparaison des espaces occupés par les conditionnements remplis (en cm³) (seringue BD Plastipak 50/60mL et flacon Crystal[®] de 50mL)

Conclusion

La technologie Crystal[®] peut prétendre à une place privilégiée dans le développement d'une unité de préparation centralisée en pharmacie hospitalière.

Le concept en lui-même répond aux critères de qualité microbiologique et de productivité nécessaire. Il s'agit en effet d'un outil automatisable à haute cadence (remplissage de 600 flacons / heure), caractérisé par l'utilisation de flacons vendus en rack de plusieurs centaines d'unités, prêts à l'emploi (déjà clos et stériles).

Les matériaux spécifiques utilisés (corps en COC) et / ou propriétaire (bouchon en élastomère thermoplastique) présentent des caractéristiques intéressantes apportant la transparence du verre mais un plus faible poids et une résistance mécanique accrue, ce qui peut faciliter le transport et le stockage à la pharmacie et dans les services de soins.

Néanmoins, la conservation de préparations parentérales injectables dans ce type de conditionnement est peu/pas décrit dans la littérature. Or les risques existent et la littérature démontre bien qu'il n'y a actuellement aucun matériau et aucun conditionnement primaire complètement inerte vis-à-vis des diminutions de concentrations dus à des phénomènes de sorption ou de perméation et d'apparition d'éléments provenant des matériaux utilisés (migration). Sur ces différents points, le PVC plastifié est certainement le plus mauvais polymère puisqu'il cumule les problématiques de sorption et de migration d'éléments du matériau (surtout les plastifiants).

Sur cette base, il était important d'évaluer le flacon Crystal[®] vis-à-vis des risques déjà observés sur les matériaux habituellement utilisés pour le conditionnement de préparations parentérales.

Dans sa globalité (corps en COC et bouchon élastomérique), les études réalisées montrent que le flacon Crystal[®] n'est pas sujet aux phénomènes de sorption même pour les molécules fortement lipophiles. C'est aussi un conditionnement inerte vis-à-vis de la migration de produits vers la préparation médicamenteuse ; il ne présente pas de possibilité de migration de plastifiants type DEHP.

Néanmoins, à l'inverse du nouveau bouchon gris, le bouchon standard du flacon entraîne une perte non négligable des conservateurs phénoliques. Il est aussi source de génération de particules lors du conditionnement de solutions basiques.

Ces 2 paramètres devront être envisagés avant l'utilisation de la technologie Crystal[®]. La collaboration avec Aseptic Technologies a eu pour conséquence la formulation d'un nouveau bouchon réduisant ces risques.

Les études de stabilité, d'une durée de 1 an, sur des solutions de céfuroxime, de midazolam et de noradrénaline dans des volumes, des concentrations et des conditions de conservation différents permettent d'envisager une préparation en unité CIVAS. Ces études nous ont amené à conclure à une bonne inertie des flacons concernant les risques d'interactions avec le COC et le bouchon des flacons Crystal[®]. Les résultats montrent en effet des stabilités comparables et parfois meilleures dans le flacon Crystal[®] que dans la seringue en polypropylène. Les durées de conservation, à différentes températures, ont pu être déterminées pour chacune des 3 molécules testées.

L'ensemble de ces résultats permet ainsi d'envisager l'utilisation de la technologie Crystal[®] en Pharmacie Hospitalière, tout en connaissant les avantages et les limites du système.

Références bibliographiques

1. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Bonne Pratiques de Préparation. 2007 [cité 27 août 2015]. Disponible sur: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/a5d6ae4b3d5fdee013ca463462b7b296.pdf
2. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Analyse des ventes de médicaments en France en 2011 [cité le 27 août 2015]. Disponible sur http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0e689f733291d5ddb09f0cccf93e438.pdf
3. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 2.6.1. Essai de stérilité. In: Pharmacopée Européenne. 8.8 éd. 2016.
4. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 2.9.19. Contamination particulaire: Particules non visibles. In: Pharmacopée Européenne. 8.8 éd. 2016.
5. Société Française de Pharmacie Clinique. Dictionnaire français de l'erreur médicamenteuse [Internet]. 2005 [cité 4 déc 2016]. Disponible sur: http://www.optimiz-sih-circ-med.fr/documents/dictionnaire_sfpc_em.pdf
6. Parshuram CS, To T, Seto W, Trope A, Koren G, Laupacis A. Systematic evaluation of errors occurring during the preparation of intravenous medication. *Can Med Assoc J.* 1 janv 2008;178(1):42-8.
7. Stucki C, Sautter A-M, Wolff A, Fleury-Souverain S, Bonnabry P. Accuracy of preparation of i.v. medication syringes for anesthesiology. *Am J Health Syst Pharm.* 15 janv 2013;70(2):137-42.
8. Olavi P. Ocular toxicity in cataract surgery because of inaccurate preparation and erroneous use of 50mg/ml intracameral cefuroxime. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 2012;90:e153-4.
9. Ferner RE, Langford NJ, Anton C, Hutchings A, Bateman DN, Routledge PA. Random and systematic medication errors in routine clinical practice: a multicentre study of infusions, using acetylcysteine as an example. *Br J Clin Pharmacol.* nov 2001;52(5):573-7.
10. Taxis K, Barber N. Incidence and severity of intravenous drug errors in a German hospital. *Eur J Clin Pharmacol.* janv 2004;59(11):815-7.
11. De Giorgi I, Fonzo-Christe C, Rudaz S, Bonnabry P. Justesse et précision des prélèvements de faibles volumes à l'aide de seringues. 13ème Journées Franco-suisse de pharmacie hospitalières; 2006; Châlon-sur-Saône.

12. Garnerin P, Piriou V, Dewachter P, Aulagner G, Diemunsch P, Latourte M, et al. Prévention des erreurs médicamenteuses en anesthésie. Recommandations. *Ann Fr Anesth Réanimation*. mars 2007;26(3):270-3.
13. Vonberg R-P, Gastmeier P. Hospital-acquired infections related to contaminated substances. *J Hosp Infect*. janv 2007;65(1):15-23.
14. Outbreak Database - Home [Internet]. [cité 16 mars 2016]. Disponible sur: <http://www.outbreak-database.com/Home.aspx>
15. Holmes CJ, Allwood MC. The microbial contamination of intravenous infusions during clinical use. *J Appl Bacteriol*. avr 1979;46(2):247-67.
16. Mansfield A, Cousins D. An observational study in four hospitals. In: Current issues in intravenous preparation and administration in Europe Baxter satellite symposium EAHP Amsterdam. 2001.
17. Cousins DH, Sabatier B, Begue D, Schmitt C, Hoppe-Tichy T. Medication errors in intravenous drug preparation and administration: a multicentre audit in the UK, Germany and France. *Qual Saf Health Care*. 1 juin 2005;14(3):190-5.
18. Selenic D, Dodson DR, Jensen B, Arduino MJ, Panlilio A, Archibald LK. Enterobacter cloacae bloodstream infections in pediatric patients traced to a hospital pharmacy. *Am J Health Syst Pharm*. 1 juill 2003;60(14):1440-6.
19. Michaels L, Ruebner B. Growth of bacteria in intravenous infusion fluids. *Lancet Lond Engl*. 18 avr 1953;1(6764):772-4.
20. Cousins DH, Upton DR. Medication error report 125: A patient dies following cross infection with falciparum malaria. *Pharm Pract*. 1999;9(220):2.
21. O'Hare JM, Shapiro MW, Creeden FV. Fatal reaction following intravenous 10 per cent dextrose. *Am J Surg*. mai 1953;85(5):658-63.
22. Jensen LS, Merry AF, Webster CS, Weller J, Larsson L. Evidence-based strategies for preventing drug administration errors during anaesthesia. *Anaesthesia*. 1 mai 2004;59(5):493-504.
23. Allwood MC. Practical guides I: Central intravenous additive services. *J Clin Pharm Ther*. 1994;19:137-45.
24. Hecq J-D. Centralized intravenous additive services (CIVAS): The state of the art in 2010. *Ann Pharm Fr*. janv 2011;69:30-7.
25. Plumridge RJ, Maher M. Justification of a pharmacy intravenous admixture service in an Australian hospital. *Am J Hosp Pharm*. 1993;50(3):463-6.

25. Bonnabry P. CIVAS, Objectifs et stratégie [Internet]. 2009 sept 10 [cité 26 juill 2015]; GERPAC, Hyères. Disponible sur: http://pharmacie.hugge.ch/ens/conferences/pb_gerpac_civas_09.pdf
27. Berthouzoz S, Berger L, Bonnabry P, Pannatier A. The hospital pharmacist: An important contributor to improved patient safety in the hospital. *Chimia*. 2012;66(5):300-3.
28. Rolin C, Hecq J-D, Tulkens P, Vanbeckbergen D, Jamart J, Galanti L. Long-term stability of temocillin in dextrose 5% and in sodium chloride 0.9% polyolefin bags at 5 +/- 3 degrees C after freeze-thaw treatment. *Ann Pharm Fr*. nov 2011;69(6):296-301.
29. Hecq J-D, Boitquin LP, Vanbeckbergen DF, Jamart J, Galanti LM. Effect of the freezing conditions and microwave thawing power on the stability of cefuroxime in dextrose 5% infusion polyolefin bags at 4 degrees C. *Ann Pharmacother*. août 2005;39(7-8):1244-8.
30. Laschi A, Sehnal N, Alarcon A, Barcelo B, Caire-Maurisier F, Delaire M, et al. Container-content compatibility studies: a pharmaceutical team's integrated approach. *PDA J Pharm Sci Technol PDA*. 2009;63(4):285-93.
31. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 3.2.2. Récipients et fermetures en matière plastique pour usage pharmaceutique. In: *Pharmacopée Européenne*. 8.8 éd. 2016.
32. Food and Drug Administration. Guidance for industry, container closure systems for packaging human drugs and biologics. U S Dep Health Hum Serv. 1999;1-56.
33. European Medicines Agency. Guideline on the Plastic Immediate Packaging Materials. 2003 [cité 18 févr 2016]; Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003448.pdf
34. Alarcon A, Barcelo B, Caire-Maurisier F, Delaire M, Feuilleley M, Genot S, et al. Container-content interaction II. Methodology. *STP Pharma Prat*. 2007;17(3):143-60.
35. Paskiet D, Jenke D, Ball D, Houston C, Norwood DL, Markovic I. The Product Quality Research Institute (PQRI) Leachables and Extractables Working Group Initiatives for Parenteral and Ophthalmic Drug Product (PODP). *PDA J Pharm Sci Technol PDA*. 1 sept 2013;67(5):430-47.
36. Kinney S, Turney K, Sagona P. Part I of II: Improved parenteral containers through plasma deposition of high purity glass. *ONdrugDelivery*. 2013;(45):46-9.

37. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 3.2.1. Récipients de verre pour usage pharmaceutique. In: Pharmacopée Européenne. 8.8 éd. 2016.
38. Bhakdi S, Krämer I, Siegel E, Jansen B, Exner M. Use of quantitative microbiological analyses to trace origin of contamination of parenteral nutrition solutions. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. mai 2012;201(2):231-7.
39. Stabilis 4.0 [Internet]. [cité 16 mars 2016]. Disponible sur: <http://www.stabilis.org/>
40. Airaudo CB, Bianchi C, Verdier M, Gayte-Sorbier A. Comparative sorption of clomipramine, viloxazine, and maprotiline hydrochlorides in polyvinylchloride bags and glass vials. *Clin Ther*. avr 1992;14(2):192-5.
41. United States Pharmacopeia Convention. <1660> Evaluation of the inner surface durability of glass containers. In: United States Pharmacopeia and The National Formulary. USP 39–NF 34.
41. Food and Drug Administration. Advisory to Drug Manufacturers: Formation of Glass Lamellae in Certain Injectable Drugs [Internet]. 2011 [cité 28 août 2015]. Disponible sur: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm248490.htm>
43. Iacocca RG, Tolti N, Allgeier M, Bustard B, Dong X, Foubert M, et al. Factors affecting the chemical durability of glass used in the pharmaceutical industry. *AAPS PharmSciTech*. sept 2010;11(3):1340-9.
44. Iacocca RG, Allgeier M. Corrosive attack of glass by a pharmaceutical compound. *J Mater Sci*. 2007;42(3):801-11.
45. Guadagnino E, Zuccato D. Delamination propensity of pharmaceutical glass containers by accelerated testing with different extraction media. *PDA J Pharm Sci Technol PDA*. 1 mars 2012;66(2):116-25.
46. Jiang G, Goss M, Li G, Jing W, Shen H, Fujimori K, et al. Novel Mechanism of Glass Delamination in Type 1A Borosilicate Vials Containing Frozen Protein Formulations. *PDA J Pharm Sci Technol PDA*. août 2013;67(4):323-35.
47. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 3.1.13. Additifs pour plastiques. In: Pharmacopée Européenne. 8.8 éd. 2016.
48. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Préparations parentérales. In: Pharmacopée Européenne. 8.8 éd. 2016.
49. Cui J, Yang J-X, Li Y-G, Li Y-S. Synthesis of High Performance Cyclic Olefin Polymers (COPs) with Ester Group via Ring-Opening Metathesis Polymerization. *Polymers*. 4 août 2015;7(8):1389-409.

50. UV Transmission | TOPAS [Internet]. [cité 23 avr 2016]. Disponible sur: <http://www.topas.com/tech-center/performance-data/uv-transmission>
51. ZEON Corporation. Cyclo Olefin Polymer (COP) Zeonex [Internet]. [cité 23 avr 2016]. Disponible sur: <http://www.zeon.co.jp/content/200181690.pdf>
52. Topas Advanced Polymer. Topas : Cyclic Olefin CoPolymer (COC) [Internet]. [cité 23 avr 2016]. Disponible sur: [http://www.topas.com/sites/default/files/files/TOPAS_Brochure_E_2014_06\(1\).pdf](http://www.topas.com/sites/default/files/files/TOPAS_Brochure_E_2014_06(1).pdf)
53. Topas Advanced Polymer. Topas : Cyclic Olefin CoPolymer (COC) Packaging [Internet]. [cité 23 avr 2016]. Disponible sur: http://www.topas.com/sites/default/files/files/Packaging_E_2014-06.pdf
54. Jenke D, Castner J, Egert T, Feinberg T, Hendricker A, Houston C, et al. Extractables characterization for five materials of construction representative of packaging systems used for parenteral and ophthalmic drug products. *PDA J Pharm Sci Technol PDA*. 1 sept 2013;67(5):448-511.
55. Saunier J, Chodur CA, Larbes L, Mrad O, Yagoubi N. Using cycloolefin copolymers as pharmaceutical or cosmetic storage material. I. A study of adjuvant migration and of polymer ageing. *J Appl Polym Sci*. 5 avr 2007;104(1):585-93.
56. Bittner GD, Denison MS, Yang CZ, Stoner MA, He G. Chemicals having estrogenic activity can be released from some bisphenol a-free, hard and clear, thermoplastic resins. *Environ Health Glob Access Sci Source*. 4 déc 2014;13(1):103.
57. Jenke D. Extractable/Leachable Substances from Plastic Materials Used as Pharmaceutical Product Containers/Devices. *PDA J Pharm Sci Technol*. 1 nov 2002;56(6):332-71.
58. Berry H. Pharmaceutical Aspects of Glass and Rubber. *J Pharm Pharmacol*. 9 août 1953;5(1):1008-23.
59. Wiener S. The Interference of Rubber with the Bacteriostatic Action of Thiomersalate. *J Pharm Pharmacol*. 9 août 1955;7(1):118-25.
60. Sacha GA, Saffell-Clemmer W, Abram K, Akers MJ. Practical fundamentals of glass, rubber, and plastic sterile packaging systems. *Pharm Dev Technol*. 2010;15(1):6-34.
61. Landi S, Held HR. Prevention of Chinosol absorption by rubber stoppers used to seal glass vials containing tuberculin PPD Mantoux solutions. *Bull World Health Organ*. 1965;33(3):395-404.

62. Wing WT. An examination of rubber used as a closure for containers of injectable solutions. Part I: Factors Affecting the Absorption of Phenol. *J Pharm Pharmacol*. 9 août 1955;7(1):648-60.
63. Bohrer D, do Nascimento PC, Binotto R, Becker E. Influence of the glass packing on the contamination of pharmaceutical products by aluminium. Part III: Interaction container-chemicals during the heating for sterilisation. *J Trace Elem Med Biol Organ Soc Miner Trace Elem GMS*. 2003;17(2):107-15.
64. Li LC, Parasrampur J, Tian Y. Particulate Contamination from Siliconized Rubber Stoppers—A Statistical Evaluation. *PDA J Pharm Sci Technol*. 1 sept 1993;47(5):270-3.
65. Chikungwa MT. Are we causing latex sensitisation unknowingly? *Anaesthesia*. 17 août 2000;55(8):828-828.
66. Zhao X, Jin S-H, Hu C-Q. The effect of rubber closures on the haze state of ceftriaxone sodium for injection. *Drug Dev Ind Pharm*. 2007;33(1):35-44.
67. Kozlovskaya L, Popilski H, Gorenbein P, Stepensky D. In vitro toxicity of infusion sets depends on their composition, storage time and storage conditions. *Int J Pharm*. juill 2015;489(1-2):285-93.
68. Kozlovskaya L, Stepensky D. Mechanisms of cell death induced by infusion sets leachables in in vitro experimental settings. *Int J Pharm*. janv 2015;478(2):693-701.
69. Pang J, Blanc T, Brown J, Labrenz S, Villalobos A, Depaolis A, et al. Recognition and Identification of UV-absorbing Leachables in EPREX® pre-filled syringes: an unexpected occurrence at a formulation—component interface. *PDA J Pharm Sci Technol*. 2007;61(6):423-32.
70. Petersen MC, Vine J, Ashley JJ, Nation RL. Leaching of 2-(2-hydroxyethylmercapto) benzothiazole into contents of disposable syringes. *J Pharm Sci*. oct 1981;70(10):1139-43.
71. Joo GE, Sohng K-Y, Park MY. The effect of different methods of intravenous injection on glass particle contamination from ampules. *SpringerPlus*. 6 janv 2016;5(1):15.
72. Mueller C, Dietel E, Heynen SR, Nalenz H, Goldbach P, Mahler H-C, et al. Physico-chemical Stability of MabThera Drug-product Solution for Subcutaneous Injection under in-use Conditions with Different Administration Materials. *Int J Pharm Compd*. juin 2015;19(3):261-7.
73. Amin A, Chauhan S, Dare M, Bansal AK. Sorption of antimicrobial agents in blow-fill-seal packs. *Pharm Dev Technol*. 1 févr 2012;17(1):84-93.

74. Anderson CR, Halford Z, MacKay M. Stability of Diphenhydramine Hydrochloride, Lorazepam, and Dexamethasone Sodium Phosphate in 0.9% Sodium Chloride Stored in Polypropylene Syringes. *Int J Pharm Compd.* août 2015;19(4):344-7.
75. McCluskey SV, Gardner B, Graner KK, Vu N. Stability of chlorothiazide sodium in polypropylene syringes. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 1 août 2015;72(15):1292-7.
76. Briot T, Vrignaud S, Lagarce F. Stability of micafungin sodium solutions at different concentrations in glass bottles and syringes. *Int J Pharm.* 15 août 2015;492(1–2):137-40.
77. De Muynck C, Remon JP, Colardyn F. The sorption of isosorbide dinitrate to intravenous delivery systems. *J Pharm Pharmacol.* sept 1988;40(9):601-4.
78. McCluskey SV, Vu N, Rueter J. Stability of nitroglycerin 110 mcg/mL stored in polypropylene syringes. *Int J Pharm Compd.* déc 2013;17(6):515-9.
79. Dopico-García M, Noguerol-Cal R, Castro-López M, Cela-Pérez M, Piñón-Giz E, López-Vilariño J, et al. Determination of polyolefin additives by reversed-phase liquid chromatography. *Open Chem.* 2012;10(3):585-610.
80. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 3.1.8. Huile de silicone utilisée comme lubrifiant. In: *Pharmacopée Européenne.* 8.8 éd. 2016.
81. Liu L, Ammar DA, Ross LA, Mandava N, Kahook MY, Carpenter JF. Silicone oil microdroplets and protein aggregates in repackaged bevacizumab and ranibizumab: effects of long-term storage and product mishandling. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* févr 2011;52(2):1023-34.
82. Shah D, Cronin J, Chacko M, Gillum A. Impact of Formulation and Processing Parameters on Silicone Extraction from Cyclic Olefin Copolymer (COC) Syringes. *PDA J Pharm Sci Technol PDA.* avr 2011;65(2):109-15.
83. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 3.1.14. Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour récipients destinés à contenir les solutions aqueuses pour perfusion intraveineuse. In: *Pharmacopée Européenne.* 8.8 éd. 2016.
84. Salomies HEM, Heinonen RM, Toppila MAI. Sorptive loss of diazepam, nitroglycerin and warfarin sodium to polypropylene-lined infusion bags (Softbags). *Int J Pharm.* 19 sept 1994;110(2):197-201.
85. Park KH, Park CK, Park J, Jeon S, Bang S-I, Kim J-H, et al. Drug adsorption behavior of polyolefin infusion tube compared to PVC and PU. *Polym Korea.* 2014;38(3):333-7.

86. Salomies H, Lautala P, Toppila M. High-performance thin-layer chromatographic method to determine sorption of propofol to infusion containers. *J Chromatogr A*. 21 avr 1995;697(1–2):597-601.
87. Kowaluk EA, Roberts MS, Blackburn HD, Polack AE. Interactions between drugs and polyvinyl chloride infusion bags. *Am J Hosp Pharm*. sept 1981;38(9):1308-14.
88. Treleano A, Wolz G, Brandsch R, Welle F. Investigation into the sorption of nitroglycerin and diazepam into PVC tubes and alternative tube materials during application. *Int J Pharm*. 18 mars 2009;369(1–2):30-7.
89. Kambia K, Dine T, Gressier B, Bah S, Germe A-F, Luyckx M, et al. Evaluation of childhood exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate from perfusion kits during long-term parenteral nutrition. *Int J Pharm*. 27 août 2003;262(1–2):83-91.
90. Genay S, Luciani C, Décaudin B, Kambia N, Dine T, Azaroual N, et al. Experimental study on infusion devices containing polyvinyl chloride: to what extent are they di(2-ethylhexyl)phthalate-free? *Int J Pharm*. 30 juin 2011;412(1-2):47-51.
91. Loff S, Kabs F, Witt K, Sartoris J, Mandl B, Niessen KH, et al. Polyvinylchloride infusion lines expose infants to large amounts of toxic plasticizers. *J Pediatr Surg*. déc 2000;35(12):1775-81.
92. Faouzi MA, Dine T, Luyckx M, Gressier B, Goudaliez F, Mallevais ML, et al. Leaching of diethylhexyl phthalate from PVC bags into intravenous teniposide solution. *Int J Pharm*. 25 avr 1994;105(1):89-93.
93. Allwood MC, Martin H. The extraction of diethylhexylphthalate (DEHP) from polyvinyl chloride components of intravenous infusion containers and administration sets by paclitaxel injection. *Int J Pharm*. 15 janv 1996;127(1):65-71.
94. Kim J-H, Yun J, Sohng J-K, Cha J-M, Choi B-C, Jeon H-J, et al. Di(2-ethylhexyl)phthalate leached from medical PVC devices serves as a substrate and inhibitor for the P-glycoprotein. *Environ Toxicol Pharmacol*. mai 2007;23(3):272-8.
95. Takatori S, Okamoto Y, Kitagawa Y, Hori S, Izumi S-I, Makino T, et al. Simulated neonatal exposure to DEHP and MEHP from PVC enteral nutrition products. *Int J Pharm*. 20 mars 2008;352(1–2):139-45.
96. Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENIHR). Opinion on : The safety of medical devices containing DEHP-plasticized PVC or other plasticizers on neonates and other groups possibly at risk (2015 update) [Internet]. 2015 [cité 2 janv 2016]. Disponible sur: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_047.pdf

97. Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENIHR). Opinion on : The safety of medical devices containing DEHP-plasticized PVC or other plasticizers on neonates and other groups possibly at risk [Internet]. 2008 [cité 25 nov 2015]. Disponible sur: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_014.pdf
98. Bernard L, Cueff R, Bourdeaux D, Breysse C, Sautou V, Armed Study Group. Analysis of plasticizers in poly(vinyl chloride) medical devices for infusion and artificial nutrition: comparison and optimization of the extraction procedures, a pre-migration test step. *Anal Bioanal Chem.* févr 2015;407(6):1651-9.
99. Radaniel T, Genay S, Simon N, Feutry F, Quagliozi F, Barthélémy C, et al. Quantification of five plasticizers used in PVC tubing through high performance liquid chromatographic-UV detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014;965:158-63.
100. Bourdeaux D, Yessaad M, Chennell P, Larbre V, Eljezi T, Bernard L, et al. Analysis of PVC plasticizers in medical devices and infused solutions by GC-MS. *J Pharm Biomed Anal.* 25 janv 2016;118:206-13.
101. Lecoeur M, Decaudin B, Guillotin Y, Sautou V, Vaccher C, ARMED Study Group. Comparison of high-performance liquid chromatography and supercritical fluid chromatography using evaporative light scattering detection for the determination of plasticizers in medical devices. *J Chromatogr A.* 23 oct 2015;1417:104-15.
102. Lecoeur M, Simon N, Sautou V, Decaudin B, Vaccher C, ARMED study group. A chemometric approach to elucidate the parameter impact in the hyphenation of evaporative light scattering detector to supercritical fluid chromatography. *J Chromatogr A.* 14 mars 2014;1333:124-33.
103. Bernard L, Cueff R, Chagnon M, Abdoulouhab F, Décaudin B, Breysse C, et al. Migration of plasticizers from PVC medical devices: Development of an infusion model. *Int J Pharm.* 15 oct 2015;494(1):136-45.
104. Bernard L, Cueff R, Breysse C, Décaudin B, Sautou V, Armed Study Group. Migrability of PVC plasticizers from medical devices into a simulant of infused solutions. *Int J Pharm.* 15 mai 2015;485(1-2):341-7.
105. Horne DC, Torrance I, Modine T, Gourlay T. The effect of priming solutions and storage time on plasticizer migration in different PVC tubing types - Implications for wet storage of ECMO systems. *J Extra Corpor Technol.* 2009;41(4):199-205.
106. Eckert E, Münch F, Göen T, Purbojo A, Müller J, Cesnjevar R. Comparative study on the migration of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and tri-2-ethylhexyl trimellitate (TOTM) into blood from PVC tubing material of a heart-lung machine. *Chemosphere.* févr 2016;145:10-6.

107. Sepe M. Density & Molecular Weight in Polyethylene : Plastics Technology [Internet]. [cité 24 avr 2016]. Disponible sur: <http://www.ptonline.com/columns/density-molecular-weight-in-polyethylene>
108. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 3.1.3. Polyoléfines. In: Pharmacopée Européenne. 8.8 éd. 2016.
109. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 3.1.4. Polyéthylène sans additif pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques. In: Pharmacopée Européenne. 8.8 éd. 2016.
110. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. 3.1.5. Polyéthylène avec additifs pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques. In: Pharmacopée Européenne. 8.8 éd. 2016.
111. Tol A, Quik RFP, Thyssen JHH. Adsorption of human and porcine insulins to intravenous administration sets. *Pharm Weekbl.* oct 1988;10(5):213-6.
112. Doglietto GB, Bellantone R, Bossola M, Perri V, Ratto C, Pacelli F, et al. Insulin Adsorption to Three-Liter Ethylen Vinyl Acetate Bags during 24-Hour Infusion. *J Parenter Enter Nutr.* 1 sept 1989;13(5):539-41.
113. Schwoppe AD, Till DE, Ehntholt DJ, Sidman KR, Whelan RH, Schwartz PS, et al. Migration of Irganox 1010 from ethylene-vinyl acetate films to foods and food-simulating liquids. *Food Chem Toxicol.* 1 avr 1987;25(4):327-30.
114. Trissel LA, Xu QA, Baker M. Drug compatibility with new polyolefin infusion solution containers. *Am J Health Syst Pharm.* 1 déc 2006;63(23):2379-82.
115. Aloumanis V, Ben M, Kupiec TC, Trissel LA. Drug compatibility with a new generation of VISIV polyolefin infusion solution containers. *Int J Pharm Compd.* 2009;13(2):162-5.
116. Bochatay L, Evéquo S, Brunner C, Morandini L, Beney J. Remplissage des infuseurs de 5-FU à l'aide d'une pompe automatique. *Pharm Hosp Clin.* sept 2015;50(3):340.
117. Brunner C, Morandini L, Humbert-Delaloye V, Beney J. Préparation de cassettes antalgiques prêtes à l'emploi. *Pharm Hosp Clin.* sept 2015;50(3):342-3.
118. Lambert P, Joergensen F. Accurate dispensing of biopharmaceuticals. *World Pumps.* mars 2008;2008(498):22-4.
119. Verjans B. Using Closed-Vial Technology in Aseptic Filling. *Pharm Technol.* 2012;36(5):s36-40.

120. Verjans B, Reed C. Assessing filling technologies for contamination risks. *Int BioPharm.* 1 mars 2012;25:46-58.
121. Hayward DS, Kenley RA, Jenke DR. Interactions between polymer containers and parenteral solutions: the correlation of equilibrium constants for polymer-water partitioning with octanol-water partition coefficients. *Int J Pharm.* 30 mars 1990;59(3):245-53.
122. Jenke DR. Modeling of solute sorption by polyvinyl chloride plastic infusion bags. *J Pharm Sci.* 1 nov 1993;82(11):1134-9.
123. Tetko IV, Tanchuk VY, Villa AE. Prediction of n-octanol/water partition coefficients from PHYSPROP database using artificial neural networks and E-state indices. *J Chem Inf Comput Sci.* oct 2001;41(5):1407-21.
124. Tetko IV, Tanchuk VY, Kasheva TN, Villa AE. Estimation of aqueous solubility of chemical compounds using E-state indices. *J Chem Inf Comput Sci.* déc 2001;41(6):1488-93.
125. Tetko IV, Tanchuk VY. Application of associative neural networks for prediction of lipophilicity in ALOGPS 2.1 program. *J Chem Inf Comput Sci.* oct 2002;42(5):1136-45.
126. Hubert P, Nguyen-Huu J-J, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon P-A, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal—Part III. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;45(1):82-96.
127. Nussbaumer S, Fleury-Souverain S, Antinori P, Sadeghipour F, Hochstrasser DF, Bonnabry P, et al. Simultaneous quantification of ten cytotoxic drugs by a validated LC–ESI–MS/MS method. *Anal Bioanal Chem.* 1 déc 2010;398(7-8):3033-42.
128. Fukazawa T, Yamazaki Y, Miyamoto Y. Reduction of non-specific adsorption of drugs to plastic containers used in bioassays or analyses. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010;61(3):329-33.
129. Li L, Zhang H, Pecosky D. The Effect of Surfactant on Drug-Plastic Sorption Phenomenon in Solution. *J Pharm Pharmacol.* août 1993;45(8):748-9.
130. Haky JE, Young AM. Evaluation of a simple HPLC correlation method for the estimation of the octanol-water partition coefficients of organic compounds. *J Liq Chromatogr.* 1984;7(4):675-89.
131. McDuffie B. Estimation of octanol/water partition coefficients for organic pollutants using reverse-phase HPLC. *Chemosphere.* 1981;10(1):73-83.

132. Cubells MP, Aixela JP, Brumos VG, Pou SD, Flaque MV. Stability of cisplatin in sodium chloride 0.9% intravenous solution related to the container's material. *Pharm World Sci.* janv 1993;15(1):34-6.
133. Diaz Amador F, Sevilla Azzati E, Herreros de Tejada y Lopez-Coterilla A. Stability of carboplatin in polyvinyl chloride bags. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 15 mars 1998;55(6):602, 604.
134. Eiden C, Philibert L, Bekhtari K, Poujol S, Malosse F, Pinguet F. Physicochemical stability of oxaliplatin in 5% dextrose injection stored in polyvinyl chloride, polyethylene, and polypropylene infusion bags. *Am J Health Syst Pharm.* 1 nov 2009;66(21):1929-33.
135. Fuloria M, Friedberg MA, DuRant RH, Aschner JL. Effect of flow rate and insulin priming on the recovery of insulin from microbore infusion tubing. *Pediatrics.* 1998;102(6):1401-6.
136. Schneider JJ, Good P, Ravenscroft PJ. Effect of Tubing on Loss of Clonazepam Administered by Continuous Subcutaneous Infusion. *J Pain Symptom Manage.* 2006;31(6):563-7.
137. Ley SC, Ammann J, Herder C, Dickhaus T, Hartmann M, Kindgen-Milles D. Insulin adsorption to catheter materials used for intensive insulin therapy in critically ill patients: Polyethylene versus polyurethane - possible cause of variation in glucose control? *Open Crit Care Med J.* 2014;7(1):1-6.
138. Ley S, Ammann J, Herder C, Hartmann M, Kindgen-Milles D. Variable adsorption of insulin at catheter materials used in intensive care units: polyethylene vs polyurethane – possible cause for hypoglycemia during intensive insulin treatment? *Crit Care.* 22 mars 2007;11(Suppl 2):P127.
139. Tarr BD, Campbell RK, Workman TM. Stability and sterility of biosynthetic human insulin stored in plastic insulin syringes for 28 days. *Am J Hosp Pharm.* déc 1991;48(12):2631-4.
140. SFPC, GERPAC. Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations [Internet]. 2013 [cité 24 oct 2014]. Disponible sur: http://www.gerpac.eu/IMG/pdf/guide_stabilite_anglais.pdf
141. ICH (International Conference on Harmonisation). Harmonise tripartite guideline - Stability testing of new drug substances and products Q1A(R2) [Internet]. 2003 [cité 24 juill 2012]. Disponible sur: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2__Guideline.pdf
142. Fleury Souverain S, Bonnabry P. The stability of soluble insulin in plastic syringes. *EJHP.* 2011;17:3-6.

143. Teska BM, Alarcón J, Pettis RJ, Randolph TW, Carpenter JF. Effects of Phenol and meta-Cresol Depletion on Insulin Analog Stability at Physiological Temperature. *J Pharm Sci.* 1 juin 2014;n/a - n/a.
144. Langille SE. Particulate Matter in Injectable Drug Products. *PDA J Pharm Sci Technol.* 1 mai 2013;67(3):186-200.
145. Iacocca RG, Tolft N, Allgeier M, Bustard B, Dong X, Foubert M, et al. Factors Affecting the Chemical Durability of Glass Used in the Pharmaceutical Industry. *AAPS PharmSciTech.* 26 août 2010;11(3):1340-9.
146. Trissel LA, American Society of Health-System Pharmacists. Handbook on injectable drugs. 16^e éd. Bethesda, MD: American Society of Health-System Pharmacists; 2011.
147. Craig R, Powers J, Peyton F. Thermogravimetric Analysis of Waxes. *J Dent Res* [Internet]. 1971 [cité 11 juin 2016];50(2). Disponible sur: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=00220345&AN=36553660&h=Q6EgjtXb2GwdbpJFOYkUYOHlvUDA6P3pq1EbltOhcz%2F9WINnNpza0nxha%2FNcfKZTtRGdWOPMeprzdDSq7tlCVw%3D%3D&crl=c>
148. Egute NS, Forster PL, Parra DF, Fermino DM, Santana S, Lugao AB. Mechanical and thermal properties of polypropylene composites with curaua fibre irradiated with gamma radiation. 2009 [cité 11 juin 2016]; Disponible sur: https://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:41097067
149. Juarez D, Ferrandiz S, Peydro MA, Sanchez-caballero S. Thermal analysis (differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis) of SEBS blends for injection molding. [cité 11 juin 2016]; Disponible sur: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.407.3922>
150. Li X-G, Lv Y, Ma B-G, Wang W-Q, Jian S-W. Decomposition kinetic characteristics of calcium carbonate containing organic acids by TGA. *Arab J Chem* [Internet]. [cité 11 juin 2016]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535213003249>
151. Chan C-M, Wu J, Li J-X, Cheung Y-K. Polypropylene/calcium carbonate nanocomposites. *polymer.* 2002;43(10):2981-92.
152. Règlement (CE) n° 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), instituant une agence européenne des produits chimiques, modifiant la directive 1999/45/CE et abrogeant le règlement (CEE) no 793/93 du Conseil et le règlement (CE) no 1488/94 de la Commission ainsi que la directive 76/769/CEE du Conseil et les directives 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE et 2000/21/CE de la Commission (JOUE 30/12/2006).

153. European Society of Cataract and Refractive Surgeons (ESCRS). Prophylaxis of postoperative endophthalmitis following cataract surgery: Results of the ESCRS multicenter study and identification of risk factors. *J Cataract Refract Surg.* juin 2007;33:978-88.
154. ANSM (French health national agency). Solution stérile de céfuroxime à 10mg/mL pour injection intracaméculaire. In: French National Formulary [Internet]. XIème édition. Paris; 2010 [cité 19 nov 2013]. Disponible sur: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/b40db1cf906e22fd3ad9281ab886883d.pdf
155. Feutry F, Simon N, Genay S, Lannoy D, Barthélémy C, Décaudin B, et al. Stability of 10 mg/mL cefuroxime solution for intracameral injection in commonly used polypropylene syringes and new ready-to-use cyclic olefin copolymer sterile vials using the LC-UV stability-indicating method. *Drug Dev Ind Pharm.* 2 janv 2016;42(1):166-74.
156. Fleury-Souverain S, Sadeghipour F, Bonnabry P. Development of ready-to-use cefuroxime syringes for use in ophthalmology. *Eur J Hosp Pharm Sci Pract.* 1 févr 2014;21(1):34-8.
157. Uhart M, Pirot F, Boillon A, Senaux E, Tall L, Diouf E, et al. Assessment of sodium hyaluronate gel as vehicle for intracameral delivery of cefuroxime in endophthalmitis prophylaxis. *Int J Pharm.* 15 oct 2010;398:14-20.
158. Kodym A, Wiśniewski A, Kniola D, Olejniczak M. Stability of cefuroxime in 1% and 5% buffered eye drops determined with HPLC method. *Acta Pol Pharm.* 2010;68(4):555-64.
159. Das Gupta V, Stewart KR. Stability of cefuroxime sodium in some aqueous buffered solutions and intravenous admixtures. *J Clin Hosp Pharm.* févr 1986;11:47-54.
160. Muller HJ, Howe K, Frank C, Haker I. Stability of cefazolin, cefotiam, cefuroxime, cefotaxime, ceftriaxone and ceftazidime in normal saline solutions, stored in a new iv container made of Biofine®. *Eur Hosp Pharm.* 2000;6:17-23.
161. Faouzi MA, Dine T, Luyckx M, Gressier B, Brunet C, Goudaliez F, et al. Stability and compatibility studies of cefaloridine, cefuroxime and ceftazidime with PVC infusion bags. *Pharm.* juin 1994;49:425-7.
162. Bianchi C, Airaudo CB, Gayte-Sorbier A. Sorption studies of dipotassium clorazepate salt (Tranxène) and midazolam hydrochloride (Hypnovel) in polyvinyl chloride and glass infusion containers. *J Clin Pharm Ther.* août 1992;17(4):223-7.
163. Hecq J-D, Boitquin LP, Vanbeckbergen DF, Jamart J, Galanti LM. Effect of freezing, long-term storage, and microwave thawing on the stability of ketorolac tromethamine. *Ann Pharmacother.* oct 2005;39(10):1654-8.

164. Hecq J-D, Jamart J, Galanti L. Microwave freeze-thaw treatment of dose-banded cytotoxics injectable drugs: A review of the literature from 1980 to 2011. *Ann Pharm Fr.* juill 2012;70(4):227-35.
165. Hecq J-D, Godet M, Jamart J, Galanti L. Microwave freeze-thaw technique of injectable drugs. A review from 1980 to 2014. *Ann Pharm Fr.* nov 2015;73(6):436-41.
166. Stiles ML, Allen LV, Prince SJ. Stability of deferoxamine mesylate, floxuridine, fluorouracil, hydromorphone hydrochloride, lorazepam, and midazolam hydrochloride in polypropylene infusion-pump syringes. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 1 juill 1996;53(13):1583-8.
167. Bleasel MD, Peterson GM, Jestrinski KW. Stability of midazolam in sodium chloride infusion packs. *Aust J Hosp Pharm.* 1993;23:260-260.
168. Karlage K, Earhart Z, Green-Boesen K, Myrdal PB. Stability of midazolam hydrochloride injection 1-mg/mL solutions in polyvinyl chloride and polyolefin bags. *Am J Health Syst Pharm.* 15 août 2011;68(16):1537-40.
169. Tremblay M, Lessard MR, Trépanier CA, Nicole PC, Nadeau L, Turcotte G. Stability of norepinephrine infusions prepared in dextrose and normal saline solutions. *Can J Anesth.* mars 2008;55(3):163-7.
170. Kaushal G, Sayre BE, Prettyman T. Stability-Indicating Hplc Method for the Determination of the Stability of Extemporaneously Prepared Norepinephrine Parenteral Solutions. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 1 janv 2012;35(18):2533-44.
171. Peddicord TE, Olsen KM, ZumBrunnen TL, Warner DJ, Webb L. Stability of high-concentration dopamine hydrochloride, norepinephrine bitartrate, epinephrine hydrochloride, and nitroglycerin in 5% dextrose injection. *Am J Health Syst Pharm.* 1 juin 1997;54(12):1417-9.
172. Walker SE, Law S, Garland J, Fung E, Iazzetta J. Stability of norepinephrine solutions in normal saline and 5% dextrose in water. *Can J Hosp Pharm.* mars 2010;63(2):113-8.
173. Allwood MC. The Stability of Four Catecholamines in 5% Glucose Infusions. *J Clin Pharm Ther.* 1 oct 1991;16(5):337-40.
174. Velghe C, Genay S, Feutry F, Barthélémy C, Décaudin B, Odou P. Stabilité de la noradrénaline conditionnée en poche et en seringue aux concentrations thérapeutiques usuelles. *Hopipharm*; 18-20 mai 2016; Clermont-Ferrand.
175. West GB. The Stability of Noradrenaline Solutions. *J Pharm Pharmacol.* 1 sept 1952;4(1):560-5.

176. Chaix P, Pallaget C. Caractères comparés de l'oxydation de la noradrénaline et de l'adrénaline évoluant en solution tampon phosphate ou bicarbonate. *Biochim Biophys Acta*. 1 janv 1953;10:462-70.

04/2011:20919

2.9.19. CONTAMINATION PARTICULAIRE : PARTICULES NON VISIBLES⁽⁸⁾

La contamination particulière des préparations injectables et des préparations pour perfusion est composée des particules étrangères, non dissoutes et mobiles, autres que des bulles de gaz, qui ont été involontairement introduites dans ces préparations.

Pour la détermination de la contamination particulière, 2 procédés sont spécifiés ci-après : méthode 1 (essai de comptage des particules par blocage de la lumière) et méthode 2 (essai de comptage des particules au microscope optique). Pour la recherche des particules non visibles dans les préparations injectables et les préparations pour perfusion, utilisez de préférence la méthode 1. Il peut toutefois être nécessaire de réaliser sur certaines préparations l'essai de comptage des particules par blocage de la lumière en premier lieu, puis l'essai de comptage des particules au microscope optique, pour pouvoir conclure quant à la conformité des résultats obtenus.

La recherche des particules non visibles effectuée en appliquant l'une de ces méthodes, voire les deux, n'est pas possible pour toutes les préparations parentérales. Lorsque la méthode 1 n'est pas applicable, par exemple dans le cas des préparations à faible limpidité ou à forte viscosité, l'essai est réalisé selon la méthode 2 (cas des émulsions, des colloïdes et des préparations liposomales). De même, un essai de comptage des particules au microscope optique peut également être exigé dans le cas de produits entraînant la formation de bulles d'air ou de gaz lorsqu'ils passent à travers le détecteur. Si la viscosité de la préparation à examiner est telle que l'examen par l'une ou l'autre méthode est impossible, une dilution quantitative avec un diluant approprié peut être effectuée, afin de réduire la viscosité au degré jugé nécessaire pour permettre l'analyse.

Les résultats obtenus en examinant la contamination particulière d'une unité ou d'un groupe d'unités ne peuvent être extrapolés avec certitude par rapport à d'autres unités qui n'ont pas été testées. Par conséquent, il convient de mettre au point des plans d'échantillonnage statistiquement valides, si l'on veut tirer des conclusions valables à partir des données observées, pour déterminer le degré de contamination particulière dans un grand groupe d'unités.

MÉTHODE 1. ESSAI DE COMPTAGE DES PARTICULES PAR BLOCAGE DE LA LUMIÈRE

Utilisez un appareil approprié, basé sur le principe de l'interception d'un rayon lumineux, permettant la détermination automatique de la taille des particules et le nombre de celles-ci par taille.

L'appareil est étalonné à l'aide de substances de référence certifiées appropriées consistant en des dispersions de particules sphériques de taille connue et comprise entre 10 µm et 25 µm. Ces particules de référence sont dispersées dans de l'eau exempte de particules R, en évitant l'agglomération des particules.

Précautions générales

Effectuez l'essai dans des conditions limitant la contamination particulière, de préférence dans une enceinte à flux laminaire. Lavez très soigneusement la verrerie utilisée et le matériel de filtration, à l'exception des membranes filtrantes, avec une solution détergente chaude, puis rincez abondamment à l'eau pour éliminer toute trace de solution détergente. Immédiatement avant utilisation, rincez le matériel de haut en bas, à l'extérieur, puis à l'intérieur, avec de l'eau exempte de particules R.

(8) Ce chapitre a fait l'objet du processus d'harmonisation des pharmacopées. Voir chapitre 5.8. Harmonisation des pharmacopées.

Evitez d'introduire des bulles d'air dans la préparation à examiner, spécialement lors du transfert des fractions de la préparation dans le récipient dans lequel la détermination est réalisée.

Afin de vérifier que l'environnement est approprié à l'essai, que la verrerie est nettoyée de manière convenable et que l'eau utilisée est exempte de particules, effectuez l'essai suivant : déterminez la contamination particulière de 5 échantillons d'eau exempte de particules R, de 5 mL chacun, en suivant le mode opératoire décrit ci-après. Si le nombre de particules de 10 µm ou plus est supérieur à 25 pour les 25 mL réunis, les précautions prises pour l'essai ne sont pas suffisantes et les manipulations préparatoires doivent être répétées jusqu'à ce que l'environnement, la verrerie et l'eau soient appropriés à l'essai.

Mode opératoire

Mélangez le contenu de l'échantillon par 20 retournements lents et successifs du récipient. Otez avec précaution, si nécessaire, la capsule de scellage. Nettoyez les surfaces externes de l'ouverture du flacon à l'aide d'un jet d'eau exempte de particules R et retirez l'obturateur en évitant toute contamination du contenu. Éliminez les bulles de gaz par des mesures appropriées, par exemple en laissant reposer la solution pendant 2 min ou en appliquant un traitement aux ultrasons.

Dans le cas des préparations parentérales de grand volume, effectuez l'essai sur des unités de prise. Concernant les préparations parentérales de petit volume, dont le volume est inférieur à 25 mL, le contenu de 10 unités ou plus est réuni dans un récipient nettoyé de façon à obtenir un volume d'au minimum 25 mL ; dans les cas justifiés et autorisés, la solution à examiner peut être préparée en mélangeant le contenu d'un nombre approprié de fioles et en complétant la solution à 25 mL avec de l'eau exempte de particules R ou un solvant convenable exempt de contamination particulière, lorsque l'eau exempte de particules R n'est pas appropriée. Les préparations parentérales de petit volume, dont le volume est supérieur ou égal à 25 mL, peuvent être examinées individuellement.

Dans le cas des poudres pour administration parentérale, reconstituez la préparation avec de l'eau exempte de particules R ou un solvant convenable exempt de contamination particulière, lorsque l'eau exempte de particules R n'est pas appropriée.

Le nombre d'échantillons doit être suffisant pour permettre une évaluation statistiquement valide. Dans le cas de préparations parentérales de grand volume ou de préparations parentérales de petit volume dont le volume est supérieur ou égal à 25 mL, moins de 10 unités peuvent être examinées, sur la base d'un plan d'échantillonnage approprié.

Prélevez à 4 reprises une quantité supérieure ou égale à 5 mL. Déterminez le nombre de particules de taille supérieure ou égale à 10 µm et à 25 µm. Calculez le nombre moyen de particules dans la préparation à examiner sans tenir compte du résultat obtenu avec la première fraction.

Evaluation

Dans le cas des préparations conditionnées en récipients de contenance nominale supérieure à 100 mL, appliquez les critères de l'essai 1.A.

Dans le cas des préparations conditionnées en récipients de contenance nominale inférieure à 100 mL, appliquez les critères de l'essai 1.B.

♦ Dans le cas des préparations conditionnées en récipients de contenance nominale égale à 100 mL, appliquez les critères de l'essai 1.B.♦

Si le nombre moyen de particules dépasse les limites, effectuez l'essai de comptage des particules au microscope optique.

Essai 1.A – Solutions pour perfusion et solutions injectables conditionnées en récipients de contenance nominale supérieure à 100 mL

La préparation satisfait à l'essai si le nombre moyen de particules présentes dans les unités examinées n'est pas supérieur à 25 par millilitre pour les particules de taille supérieure ou égale à 10 µm et à 3 par millilitre pour les particules de taille supérieure ou égale à 25 µm.

Essai 1.B – Solutions pour perfusion ou solutions injectables conditionnées en récipients de contenance nominale inférieure à 100 mL

La préparation satisfait à l'essai si le nombre moyen de particules présentes dans les unités examinées n'est pas supérieur à 6000 par récipient pour les particules de taille supérieure ou égale à 10 µm et à 600 par récipient pour les particules de taille supérieure ou égale à 25 µm.

MÉTHODE 2. ESSAI DE COMPTAGE DES PARTICULES AU MICROSCOPE OPTIQUE

Utilisez un microscope binoculaire approprié, un dispositif de filtration pour retenir la contamination particulaire et une membrane filtrante.

Le microscope est équipé d'un micromètre oculaire étalonné à l'aide d'un micromètre objectif, d'une platine à mouvements croisés capable de maintenir et de traverser toute la surface de filtration de la membrane filtrante, de 2 illuminateurs appropriés permettant un éclairage épiscopique et un éclairage oblique, et est ajusté à un grossissement de 100 ± 10.

Le micromètre oculaire est un réticule circulaire (voir figure 2.9.19.-1.) et comprend un grand cercle divisé en quartiers par des croisées, des cercles de référence noirs et transparents d'un diamètre de 10 µm et de 25 µm à un grossissement de 100, et une échelle linéaire graduée tous les 10 µm. Il est étalonné à l'aide d'un micromètre objectif certifié par une organisation internationale ou nationale de normalisation. Une erreur relative de ± 2 pour cent sur l'échelle linéaire du réticule est acceptable. Le grand cercle est appelé champ de visée du réticule (GFOV).

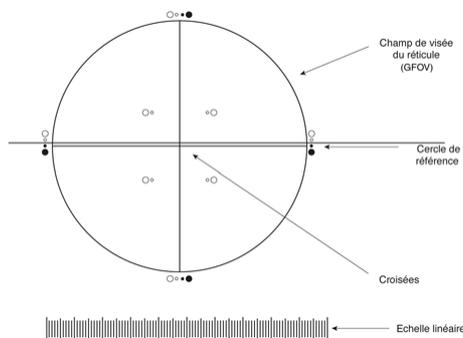


Figure 2.9.19.-1. – Réticule circulaire

2 illuminateurs sont nécessaires, un illuminateur épiscopique pour fond clair, interne au microscope, et un illuminateur auxiliaire externe, avec mise au point réglable, ajustable pour permettre un éclairage oblique réfléchi selon un angle de 10-20°.

Le dispositif de filtration destiné à retenir la contamination particulaire comprend un support de filtre en verre ou en un autre matériau convenable, une source de vide et une membrane filtrante adéquate.

La membrane filtrante, de dimensions appropriées, est de couleur noire ou gris foncé ; elle est recouverte ou non d'une grille et la taille des pores est inférieure ou égale à 1,0 µm.

Précautions générales

Effectuez l'essai dans des conditions limitant la contamination particulaire, de préférence dans une enceinte à flux laminaire.

Lavez très soigneusement la verrerie utilisée et le système de filtration, à l'exception de la membrane filtrante, avec une solution détergente chaude, puis rincez abondamment à l'eau pour éliminer toute trace de solution détergente. Immédiatement avant utilisation, rincez les 2 côtés de la membrane filtrante et le matériel de haut en bas, à l'extérieur, puis à l'intérieur, avec de l'eau exempte de particules R.

Afin de vérifier que l'environnement est approprié à l'essai, que la verrerie et la membrane filtrante sont nettoyées de manière convenable et que l'eau utilisée est exempte de particules, effectuez l'essai suivant : déterminez la contamination particulaire sur un volume de 50 mL d'eau exempte de particules R en suivant le mode opératoire décrit ci-après. Lorsque la surface de filtration comporte un nombre de particules de 10 µm ou plus supérieur à 20 ou un nombre de particules de 25 µm ou plus supérieur à 5, les précautions prises pour l'essai ne sont pas suffisantes et les manipulations préparatoires doivent être répétées jusqu'à ce que l'environnement, la verrerie, la membrane filtrante et l'eau soient appropriés à l'essai.

Mode opératoire

Mélangez le contenu de l'échantillon par 20 retournements lents et successifs du récipient. Otez avec précaution, si nécessaire, la capsule de scellage. Nettoyez les surfaces externes de l'ouverture du flacon à l'aide d'un jet d'eau exempte de particules R et retirez l'obturateur en évitant toute contamination du contenu.

Dans le cas des préparations parentérales de grand volume, effectuez l'essai sur des unités de prise. Dans le cas des préparations de petit volume, dont le volume est inférieur à 25 mL, le contenu de 10 unités ou plus est réuni dans un récipient nettoyé ; dans les cas justifiés et autorisés, la solution à examiner peut être préparée en mélangeant le contenu d'un nombre approprié de fioles et en complétant à 25 mL avec de l'eau exempte de particules R ou un solvant convenable exempt de contamination particulaire, lorsque l'eau exempte de particules R n'est pas appropriée. Les préparations parentérales de petit volume dont le volume est supérieur ou égal à 25 mL, peuvent être examinées individuellement.

Dans le cas des poudres pour administration parentérale, reconstituez la préparation avec de l'eau exempte de particules R ou un solvant convenable exempt de contamination particulaire lorsque l'eau exempte de particules R n'est pas appropriée.

Le nombre d'échantillons doit être suffisant pour permettre une évaluation statistiquement valide. Dans le cas de préparations parentérales de grand volume ou de préparations de petit volume dont le volume est supérieur ou égal à 25 mL, moins de 10 unités peuvent être examinées individuellement, sur la base d'un plan d'échantillonnage approprié.

Humidifiez l'intérieur du support de filtre muni de la membrane filtrante avec quelques millilitres d'eau exempte de particules R. Transvasez dans l'entonnoir la totalité de l'échantillon à analyser (mélange de prises d'essai ou unité de prise) et appliquez le vide. Si nécessaire, ajoutez petit à petit une fraction de la solution jusqu'à ce que le volume entier soit filtré. Après la dernière addition, commencez le rinçage des parois intérieures du support de filtre en utilisant un jet d'eau exempte de particules R. Maintenez le vide jusqu'à ce que la surface de la membrane filtrante soit exempte de liquide. Placez le filtre dans une boîte de Pétri et faites-le sécher à l'air en laissant la boîte légèrement ouverte. Lorsque le filtre est sec, placez la boîte de Pétri sur la platine du microscope, effectuez un balayage de la membrane filtrante entière sous la lumière réfléchie de l'illuminateur, et comptez le nombre de particules de taille supérieure ou égale à 10 µm et le nombre de particules de taille supérieure ou égale à 25 µm. Il est également possible d'effectuer un comptage partiel et de déterminer par calcul le

nombre total de particules retenues sur le filtre. Calculez le nombre moyen de particules présentes dans la préparation à examiner.

Pour déterminer la taille des particules à l'aide du réticule circulaire, opérez une transformation mentale de l'image de chaque particule en un cercle, puis comparez-la aux cercles de référence du réticule de 10 μm et de 25 μm . Ainsi, les particules gardent leur position initiale à l'intérieur du champ de visée du réticule et ne sont pas superposées aux cercles de référence pour les besoins de la comparaison. Le diamètre intérieur des cercles de référence transparents du réticule est utilisé pour déterminer la taille des particules blanches et transparentes, alors que la taille des particules sombres est déterminée à l'aide du diamètre extérieur des cercles de référence noirs et opaques du réticule.

En réalisant l'essai de comptage des particules au microscope, ne cherchez pas à mesurer ou à énumérer les matières amorphes, semi-liquides, ou encore morphologiquement indistinctes, qui ressemblent à une tache ou à une zone décolorée de la membrane filtrante. Ces matières peuvent présenter un relief faible ou nul et revêtir un aspect gélatineux ou l'apparence d'un film. L'interprétation de l'énumération peut alors être facilitée en réalisant l'essai de comptage des particules par blocage de la lumière sur un échantillon de la solution.

Evaluation

Dans le cas des préparations conditionnées en récipients de contenance nominale supérieure à 100 mL, appliquez les critères de l'essai 2.A.

Dans le cas des préparations conditionnées en récipients de contenance nominale inférieure à 100 mL, appliquez les critères de l'essai 2.B.

♦ Dans le cas des préparations conditionnées en récipients de contenance nominale égale à 100 mL, appliquez les critères de l'essai 2.B.♦

Essai 2.A – Solutions pour perfusion et solutions injectables conditionnées en récipients de contenance nominale supérieure à 100 mL

La préparation satisfait à l'essai si le nombre moyen de particules présentes dans les unités examinées n'est pas supérieur à 12 par millilitre pour les particules de taille supérieure ou égale à 10 μm et à 2 par millilitre pour les particules de taille supérieure ou égale à 25 μm .

Essai 2.B – Solutions pour perfusion et solutions injectables conditionnées en récipient de contenance nominale inférieure à 100 mL

La préparation satisfait à l'essai si le nombre moyen de particules présentes dans les unités examinées n'est pas supérieur à 3000 par récipient pour les particules de taille supérieure ou égale à 10 μm et à 300 par récipient pour les particules de taille supérieure ou égale à 25 μm .

01/2008:20920

2.9.20. CONTAMINATION PARTICULAIRE : PARTICULES VISIBLES

La contamination particulaire des préparations injectables et des préparations pour perfusion est composée de particules étrangères, non dissoutes et mobiles autres que des bulles de gaz et qui se trouvent involontairement dans ces solutions.

L'objectif de l'essai est de fournir une méthode simple d'évaluation visuelle de la qualité des solutions parentérales en ce qui concerne les particules visibles. D'autres méthodes validées peuvent être utilisées.

APPAREILLAGE

L'appareillage (voir figure 2.9.20.-1) se compose d'un poste d'observation comprenant :

- un panneau noir mat de dimensions appropriées, placé en position verticale,
- un panneau blanc anti-éblouissant de dimensions appropriées, placé en position verticale à côté du panneau noir,
- une rampe d'éclairage orientable comportant une source de lumière blanche protégée et un diffuseur appropriés (une rampe comprenant 2 tubes fluorescents de 13 W et d'une longueur de 525 mm chacun est appropriée). L'éclairement au point d'observation est maintenu entre 2000 lux et 3750 lux, bien qu'il soit préférable d'utiliser un éclairement plus élevé pour les récipients de verre coloré ou en plastique.

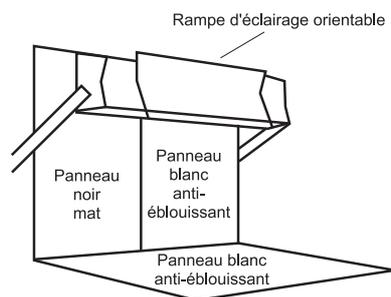


Figure 2.9.20.-1. – Appareillage pour les particules visibles

MODE OPÉRATOIRE

Découlez éventuellement les étiquettes, puis lavez et séchez l'extérieur du récipient. Agitez doucement ou renversez le récipient avec précaution, en veillant à éviter la formation de bulles d'air, puis observez-le pendant 5 s environ contre le panneau blanc. Répétez cette opération contre le panneau noir. Notez la présence de toute particule.

01/2008:20922

2.9.22. TEMPS DE RAMOLLISSEMENT DES SUPPOSITOIRES LIPOPHILES

Cet essai est destiné à déterminer, dans des conditions définies, le temps écoulé jusqu'à ce qu'un suppositoire placé dans l'eau soit suffisamment ramolli pour ne plus offrir de résistance à une charge définie.

APPAREILLAGE A

L'appareil (figure 2.9.22.-1) est constitué par un tube de verre à fond plat d'un diamètre intérieur de 15,5 mm et d'une longueur d'environ 140 mm. Un couvercle amovible de matière plastique, comportant un orifice de 5,2 mm de diamètre, sert de fermeture. L'appareil comprend une tige de 5,0 mm de diamètre, dont l'extrémité inférieure est plus large, avec un diamètre de 12 mm. Sur la face inférieure est fixée une pointe métallique de 2 mm de longueur et de 1 mm de diamètre.

La tige est constituée de 2 parties, une partie inférieure en matière plastique et une partie supérieure en matière plastique ou en métal comportant un disque de charge. Les parties supérieure et inférieure sont, soit solidaires (version manuelle), soit maintenues séparées (version automatisée). Le poids de la tige entière est de $30 \pm 0,4$ g. La partie supérieure de la tige est pourvue d'une bague de repère déplaçable. Lorsque la tige repose sur le fond du tube vide, la bague du repère se trouve à fleur du couvercle en matière plastique.

Annexe 2

	AT-COM-TEC-006	Version 2.0
	CONFIDENTIAL INFORMATION DISCLOSURE FORM	page 2 of 2

Information provided: Extractables from vial body material

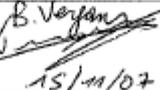
Extractables from the COC granules (irradiated at 0, 25 and 50 kGray) with dichloromethane extraction.

Threshold of 2ppm in at least one test, blank = not detected

IC: identified compound, MPC: most probable compound, TIC: tentatively identified compound

Name	Identification level	Quantity (ppm)		
		0	25	50
Irradiation level (min KGray)				
Headspace GC/MS				
Sum of tert-butanol and bicyclopentane	MPC		10	5
Sum of Cis- and Trans-decahydronaphthalene	IC	18	13	11
2-methyl-1-propene	MPC		4	2
Cyclopentanone	IC		2	1
GC/MS				
Sum of Cis- and Trans-decahydronaphthalene	IC	31	28	43
Butyl-citrate	MPC	3		
2,6-bis-(tert-butyl)-4-ethylphenol	MPC		12	36
2,4,6-tris-(tert-butyl)-phenol	TIC		9	18
7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-diene-2,8-dione	MPC		5	4
Bis-(tert-butyl)-benzenediol isomer	TIC		4	1
3,5-di-tert-butyl-4-hydroxy-benzaldehyde	MPC		3	4
Unidentified			3	
Diethyl phtalate	TIC		2	
2,5-Cyclohexadien-1,4-dione, 2,6-bis(tert-butyl)	MPC		2	9
3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyacetophenyl propionic acid	TIC		1	9
2,6 bis-(tert-butyl)-4-ethylidene-2,5-cyclohexadiene-1-one	MPC			5
p-octylacetophenone	TIC			5
2-6 bis-(tert-butyl) phenol	MPC			3
3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyacetophenone	MPC			3
3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxy-benzene propionic acid methylester	MPC			2
LC/MS				
Irganox 1010	IC	803	433	650

ORIGINAL

Prepared by 	Reviewed by 	Approved by 
Date 15/11/07	Date 15.11.07	Date 15.11.07

	AT-COM-TEC-006	Version 1.1
	CONFIDENTIAL INFORMATION DISCLOSURE FORM	page 1 of 3

CONFIDENTIAL INFORMATION DISCLOSURE FORM

ORIGINAL

Company name	
Addressee person name	
CDA in place since	
CDA valid for	

Disclosing person	initials
Approving person	initials
Date of disclosure	

Information provided: Extractables study from stopper

Test performed by CIBA Specialty Chemicals, report 07.268

The aim of the study was to get an overview about volatiles, semi-volatiles and other potentially extractable compounds in the thermoplastic elastomer (TPE) which is used as stopper for the Closed Vial.

Forced artificial extraction conditions were applied to identify critical compounds that are released from the TPE stopper and to reveal reasonable candidates for future leachable studies.

The following conditions were used for forced extraction:

- Stopper were initially gamma-irradiated at minimum 50 kGray to represent a worst case scenario
- Stopper were reduced to very small pieces to maximize contact surface
- Extraction in WFI were conducted during 6 hours at 95°C, close to melting temperature (130°C)
- Two chemical solvents, isopropanol and n-hexane (both at 50°C for 6 hours) have been used to extract higher quantities of extractables and other extractables such as hydrophobic molecules

1) **Total Organic Carbon:** results with WFI have shown presence of 62 ppm of TOC content

2) **Elemental analysis:** the only detected element is Zn at 0.5 ppm in WFI

3) **Extractable profiles:** the results are expressed as GC peak intensity:
 +++: very intense, ++: intense, +: weak, all other detected compounds provided only weak signals

Name	n-Hexane	Isopropanol	WFI
Thermodesorption-GC/MS			
Dodecyl acrylate	+++	+++	++
2,6-di-tert-butyl-1,4-benzoquinone	+++	+++	++
1-dodecanol	+++	++	-
1,3-bis (tert-butyl)-benzene	+++	+++	-
Bis (tert-butyl) phenol	+++	+++	+++
7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-diene-2,8-dione	++	++	++
Dodecanoic acid methylethyl ester	++	++	-
Pentadecane	++	++	-
Tetradecane	++	++	-
Hexadecane	++	++	-
Bisphenol A	-	-	++
3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenol-propionic acid	-	-	++
LC/MS			
No compounds detected with significant presence			

4) **Quantification of the peaks detected:**

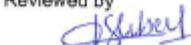
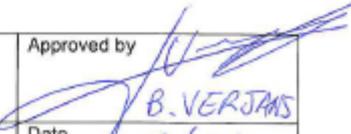
Isopropanol extraction:

Name	Semi-quantification ppm
Thermodesorption-GC/MS	
Dodecyl acrylate	94
7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-diene-2,8-dione	45
1,3-bis (tert-butyl)-benzene	7
1-dodecanol	4
Pentadecane	4
Dodecanoic acid methylethyl ester	2
Tetradecane	2
Hexadecane	2
<i>All other compounds were below 2ppm</i>	
LC/MS	
<i>No compound detected at concentration in the range of 1 ppm</i>	

ORIGINAL

WFI extraction:

Name	Semi-quantification ppm
Thermodesorption-GC/MS	
Bisphenol A	6.1
Dodecyl acrylate	1.8
7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-diene-2,8-dione	0.9
3-tert-butyl-4-hydroxyphenol-propionic acid	0.5
Bis (tert-butyl) phenol	0.4
<i>All other compounds were below 0.4ppm</i>	
LC/MS	
<i>No compound detected at concentration in the range of 1 ppm</i>	

Prepared by  Krzysztof TARGOWSKI Date 14/03/2013	Reviewed by  Anne GLIBERT Date 14/03/2013	Approved by  B. VERJANS Date 14/03/2013
--	---	--

ORIGINAL

Annexe 4

<i>IES Analytical Testing</i>	REPORT	 Expert Services
Leachables Study for a Container Closure System (COC-Vial and TPE Stopper) – Results T = 36 months		
	Report No: 12.004 (T36)	Page 1 of 8

Responsible Scientist: Dr. Margot Reth
Intertek Expert Services, Analytical Testing
P.O. Box
R-1047.1.04
CH-4002 Basel, Switzerland

Study Director: Dr. Armin Hauk
Intertek Expert Services, Analytical Testing
P.O. Box
R-1047.1.06
CH-4002 Basel, Switzerland

Customer: Mrs. F. Delhalle
Aseptic Technologies
Rue Camille Hubert, 7-9
B-5032 Gembloux-Les Isnes

Responsible scientist	Dr. M. Reth	Date : 28.03.2012	Signature: 
Study Director	Dr. A. Hauk	Date: 28.03.2012	Signature: 

All documents belonging to this study (e.g. study plan, raw data etc.) are archived for 10 years in the archive of the testing facility, Intertek Expert Services, CH-4002 Basel, Switzerland.

<i>Intertek Expert Services</i>	Report 12.004 (T36)	Page 2 of 8
---------------------------------	----------------------------	-------------

Table of Contents:

1. Introduction	3
2. Experimental	3
2.1. Samples.....	3
2.2 Analytical methods.....	3
3. Results	4
3.1 TOC, pH value and conductivity of the aqueous extracts	4
3.2 Results from elemental analysis.....	4
3.3 Concentration of leachables after 0, 3, 6, 12, 24 and 34 months of contact.....	5

1. Introduction

The aim of this part of the leachable study was to analyze WFI solutions and aqueous 10% ethanol solutions after 24 months of contact to a container closure system. Detailed information about the applied analytical methods is given in Report 07.422 "Leachable Study for a Container Closure System (COC-Vial and TPE Stopper)".

2. Experimental

2.1. Samples

Table 1 gives an overview about the samples (WFI and 10% ethanol; T=36 months) that were provided by the customer for the leachable study. The simulants were stored in 2 ml vials manufactured of a COC-polymer (COC 8007-S4) and closed with a stopper made from thermoplastic elastomer (TPE TS 6173).

Table 1: Samples that were provided by the customer for the leachable study.

Container closure system filled with:	Labelled as follows:
WFI solution	T36 mois, to be pooled, 19.12.2011, Anne Glibert
10% ethanol solution	T36 mois, to be pooled, 19.12.2011, Anne Glibert

2.2 Analytical methods

The samples were analysed by the following analytical methods:

- TDS-GC/MS after extraction with dichloromethane
- Headspace-GC/MS
- Headspace-GC/MS after derivatisation
- HPLC/UV
- HPLC/MSMS
- Metal analysis by ICP-MS
- TOC analysis
- pH determination
- Conductivity measurement

Detailed information about the applied methods is given in Report 07.422 "Leachable Study for a Container Closure System (COC-Vial and TPE Stopper)".

3. Results

3.1 TOC, pH value and conductivity of the aqueous extracts

Results of the TOC, pH and conductivity measurement in the aqueous extracts before (T0) and after three, six, 12, 24 and 36 months of contact to the container closure system are summarized in Table 2.

Table 2: TOC content, conductivity and pH value measured in the aqueous extracts before (T0) and after three, six, 12, 24 and 36 months of contact to the container closure system.

Time of contact [months]	TOC [mg/l]	pH ¹		pH ²	Conductivity ¹ [µS]
		without KCl	with KCl		
0	<1	6.7	6.3	5.9	0.9
3	45	4.1	4.1	4.2	34
6	38	4.1	4.1	4.1	48
12	52	*	*	4.1	43
12B	62	4.2	*	4.0	54
24	49	4.0	*	4.0	51
36	40	*	*	4.1	*

1: determined by Asaptic Technologies, 2: determined by Intertek Expert Services, * not determined

3.2 Results from elemental analysis

The elements Fe, Zn, Cr, Al and Ni were quantitatively determined on a 10 ppb level in the pooled WFI solution after 12, 24 and 36 months of storage and in the pooled 0.5% phenoxyethanol samples before (T0) and after three, six and 12 months of contact to container closure system. The following Table 3 gives an overview on the quantitative results.

Table 3: Concentrations (mg/kg) of metals determined by elemental analysis (ICP-MS) in the WFI solution after 12, 24 and 36 months of storage and in the 0.5% phenoxyethanol simulant before (T0) and after three, six and after 12 months of contact to the container closure system.

Time of contact [months]	Concentration [mg/kg]				
	Fe	Zn	Cr	Al	Ni
<i>0.5% phenoxyethanol solution:</i>					
0	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
3	0.04	0.10	<0.01	0.05	<0.01
6	0.03	0.13	<0.01	0.08	<0.01
12	0.07	0.11	<0.01	0.19	<0.01
<i>WFI solution:</i>					
12B	0.06	0.39	<0.01	0.09	<0.01
24	0.10	0.30	<0.01	0.06	<0.01
36	0.12	0.73	<0.01	0.01	0.01

3.3 Concentration of leachables after 0, 3, 6, 12, 24 and 34 months of contact

The following Tables 4 and 5 summarize the concentrations of leachables detected in the two solutions (WFI and 10% ethanol) before (T0) and after three (T3), six (T6), 12 (T12B), 24(T24) and after 36 months (T36) of contact to the container closure system.

Table 4: Concentration of leachables in the WFI solutions at the beginning of the study (T0) and after three (T3), six (T6), 12 (T12B), 24(T24) and after 36 months (T36) as well as information to the applied analytical method.

CAS- No.	Compound	Concentration [ng/μl]							Source*		Applied method
		T0	T3	T6	WFI			T36	COC	TPE	
					T12	T12B	T24				
20170-32-5	3-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionic acid	< 0.003	0.055	0.057	0.094	0.096	0.144	0.180	x	X	HPLC/UV
1620-98-0	3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxybenzaldehyde	< 0.001	< 0.001	< 0.001	≤ 0.003	< 0.010	<0.010	<0.010	X	X	HPLC/UV
82304-66-3	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro[4.5]dodeca-6,9-dione-2,8-dione	0.001	0.018	0.023	0.029	0.047	0.039	0.040	X	X	HPLC/UV
96-76-4	2,4-Di-tert-butyl-phenol	0.005	≤ 0.005	≤ 0.005	0.007	0.021	0.013	≤0.010		X	HPLC/UV
128-27-0	2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT)	< 0.003	< 0.003	< 0.003	< 0.010	< 0.010	<0.010	<0.010	X		HPLC/UV
4130-42-1	2,6-Di-tert-butyl-4-ethylphenol	< 0.003	< 0.003	< 0.003	< 0.010	< 0.010	<0.010	<0.010	X		HPLC/UV
732-26-3	2,4,6-Tris-tert-butyl-phenol	< 0.003	< 0.003	< 0.003	< 0.015	< 0.015	<0.015	<0.010	X		HPLC/UV
6583-19-8	Irganox 1010	< 0.003	< 0.003	< 0.003	< 0.010	< 0.010	<0.010	<0.010	X		HPLC/UV
80-05-7	Bisphenol A	< 0.010	< 0.010	< 0.010	< 0.010	< 0.010	<0.010	<0.030		X	HPLC/MS ²
64-18-6	Formic acid	< 0.4	3.4	4.8	6.3	5.5	3.0	10	X		HS-GC/MS
64-19-7	Acetic acid	< 0.4	7.1	8.5	34	49	42	44	X		HS-GC/MS
719-22-2	2,6-Di-tert-butyl-2,5-cyclohexadiene-1,4-dione	< 0.005	< 0.005	< 0.005	0.020	0.050	< 0.005	<0.005	X	X	TDS-GC/MS
112-53-8	Dodecanol	< 0.005	0.008	0.016	0.020	0.030	0.024	0.016		X	TDS-GC/MS
112-66-3	Dodecyl acetate	< 0.005	< 0.005	< 0.005	0.006	0.009	0.009	<0.005		X	TDS-GC/MS
2156-97-0	Dodecylacrylate	< 0.005	< 0.005	0.010	< 0.005	0.040	0.014	<0.005		X	TDS-GC/MS

CAS- No.	Compound	Concentration [ng/μl]							Source ^a		Applied method
		T0	T3	T6	WFI			T36	COC	TPE	
					T12	T12B	T24				
117-81-7	Bis-(2-ethylhexyl)-phthalate	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	0.005	0.005	X		TDS-GC/MS
67-64-1	Acetone	0.008	0.5	0.3	0.2	0.3	0.12	0.09	X		HS-GC/MS
79-20-9	Methyl acetate	< 0.017	< 0.017	< 0.017	< 0.017	< 0.017	< 0.017	0.014	X		HS-GC/MS
75-65-0	tert-Butanol	< 0.005	2.0	1.8	2.0	1.7	0.88	0.68	X		HS-GC/MS
498-66-8	2-Norbomane	< 0.015	< 0.015	< 0.015	< 0.015	< 0.015	< 0.015	< 0.015	X		HS-GC/MS
279-23-2	Norbomane	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.015	X		HS-GC/MS
96-41-3	Cyclopentanol	< 0.005	0.018	0.029	0.018	0.026	0.012	< 0.5	X		HS-GC/MS
120-92-3	Cyclopentanone	< 0.005	0.033	0.022	0.011	0.021	0.011	< 0.1	X		HS-GC/MS
497-38-1	Norbomanone	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	X		HS-GC/MS
493-01-6, 493-02-7	Decalin (cis and trans isomer)	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	X		HS-GC/MS
1014-60-4	1,3-Di-tert-butylbenzene	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	X		HS-GC/MS

^a according to the results of the extractables studies.

Table 5: Concentration of leachables in the 10% ethanol solutions at the beginning of the study (T0) and after three (T3), six (T6), 12 (T12 and T12B), 24 (T24) and after 36 months (T36) of contact as well as information to the applied analytical method.

CAS- No.	Compound	Concentration [ng/µl]							Source ^a		Applied method
		10% ethanol							COC	TPE	
		T0	T3	T6	T12	T12B	T24	T36			
20170-32-5	3-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionic acid	<0.003	0.074	0.101	0.136	0.192	0.222	0.300	X	X	HPLC/UV
1620-98-0	3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxybenzaldehyde	<0.001	0.002	0.003	≤0.003	<0.010	<0.010	<0.010	X	X	HPLC/UV
82304-66-3	7,8-Di-tert-butyl-1-oxaspiro[4.5]deca-6,8-diene-2,8-dione	0.002	0.044	0.049	0.057	0.087	0.085	0.090	X	X	HPLC/UV
96-76-4	2,4-Di-tert-butylphenol	0.005	0.030	0.024	0.027	0.061	<0.047	0.050		X	HPLC/UV
128-27-0	2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT)	<0.003	<0.003	<0.003	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	X		HPLC/UV
4130-42-1	2,6-Di-tert-butyl-4-ethylphenol	<0.003	<0.003	<0.003	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	X		HPLC/UV
732-26-3	2,4,6-Tris-tert-butylphenol	<0.003	<0.003	<0.003	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	X		HPLC/UV
6683-19-8	Irganox 1010	<0.003	<0.003	<0.003	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	X		HPLC/UV
80-05-7	Bisphenol A	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010	0.055	0.030	0.020		X	HPLC/MSMS
64-18-6	Formic acid	<0.4	3.7	4.2	3.8	15	15	35	X		HS-GC/MS
64-19-7	Acetic acid	<0.4	10.8	9.3	34	81	94	147	X		HS-GC/MS
719-22-2	2,6-Di-tert-butyl-2,5-cyclohexadiene-1,4-dione	<0.005	<0.005	<0.005	0.026	0.033	0.025	0.028	X	X	TDS-GC/MS
112-53-8	Dodecanol	<0.005	0.013	0.032	0.029	0.076	0.044	0.080		X	TDS-GC/MS
112-66-3	Dodecyl acetate	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.040	0.024	<0.005		X	TDS-GC/MS
2156-97-0	Dodecylacrylate	<0.005	<0.005	<0.005	0.005	0.017	0.019	<0.005		X	TDS-GC/MS
117-81-7	Bis-(2-ethylhexyl)-phthalate	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.006	0.006	X		TDS-GC/MS
67-64-1	Acetone	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	X		HS-GC/MS
79-20-9	Methyl acetate	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	X		HS-GC/MS
75-65-0	tert-Butanol	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	n. m.	X		HS-GC/MS
498-66-8	2-Norbornane	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	X		HS-GC/MS
279-	Norbornane	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	X		HS-GC/MS

CAS- No.	Compound	Concentration [ng/μl]							Source*		Applied method
		10% ethanol							COC	TPE	
		To	T3	T6	T12	T12B	T24	T36			
23-2											
96-41-3	Cyclopentanol	<0.005	0.020	0.024	0.022	0.2	0.56	0.50	X	HS-GC/MS	
120-92-3	Cyclopentanone	<0.005	0.032	0.024	0.040	0.4	0.69	0.65	X	HS-GC/MS	
497-38-1	Norbomanone	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.011	0.016	0.023	X	HS-GC/MS	
493-01-6, 493-02-7	Decalin (cis and trans isomer)	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	X	HS-GC/MS	
1014-60-4	1,3-Di-tert-butylbenzene	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	X	HS-GC/MS	

* according to the results of the extractables studies.

n.m. not measurable, due to co-elution with the simulant component

Annexe 5

ANSM

SOLUTION STÉRILE DE CÉFUROXIME À 10 mg/mL POUR INJECTION INTRACAMÉRALE¹

La préparation satisfait à la monographie *Préparations parentérales, Préparations injectables (0520)*.

DÉFINITION

Formule :

Composant	Quantité	Fonction	Référentiel
Céfuroxime sodique ²	0,789 g de substance anhydre correspondant à 0,750 g de cefuroxime	Substance active	Ph. Eur.
Sodium (chlorure de) (solution stérile de) à 9 g/L ³	75,00 mL	Isotonisant et solvant	Ph. Eur. - Chlorure de sodium - Eau pour préparations injectables

Teneur : 9,0 mg/mL à 11,0 mg/mL de céfuroxime (C₁₆H₁₆N₄O₈S).

PRÉPARATION

Réalisez la préparation afin que le délai entre la mise en solution de la céfuroxime sodique et la congélation soit inférieur à 2 h.

Dans le flacon contenant 0,789 g de céfuroxime sodique sous forme anhydre, introduisez 10,0 mL d'une solution stérile de chlorure de sodium à 9 g/L et agitez doucement pour éviter la formation de mousse, jusqu'à dissolution complète.

Dans une poche stérile vide en poly(éthylène-acétate de vinyle) de 250 mL, introduisez en filtrant (0,22 µm) la totalité du contenu du flacon renfermant la solution de céfuroxime sodique et ajoutez 65,0 mL de solution stérile de chlorure de sodium à 9 g/L. Homogénéisez.

Répartissez 0,5 mL environ de la solution préparée dans des seringues à cône normalisé verrouillable d'une contenance de 1 mL. Adaptez un bouchon approprié.

Conditionnez dans un suremballage approprié et étiquetez.

Congelez immédiatement à - 15 °C.

¹ Cette préparation est réalisée dans des pharmacies hospitalières autorisées. Elle est utilisée lors de la chirurgie de la cataracte, en fin d'intervention, en injectant une dose unique dans la chambre antérieure de l'œil, chez des patients non allergiques à la céfuroxime. Elle est réservée à l'usage hospitalier.

² S'agissant d'une préparation injectable, utilisez une spécialité pharmaceutique contenant 0,750 g de céfuroxime (poudre pour solution injectable) par flacon.

³ S'agissant d'une préparation injectable, utilisez une spécialité pharmaceutique.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que les préambules du Formulaire national et de la Pharmacopée française s'appliquent

Formulaire national 2010

CARACTÈRES

Aspect de la solution décongelée : liquide limpide, incolore à sensiblement incolore.

IDENTIFICATION

Effectuez l'identification A ou l'identification B.

A. Examinez les chromatogrammes obtenus dans le dosage.

Résultats : le pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner est semblable quant à son temps de rétention et ses dimensions au pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

B. Spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25).

Solution à examiner. Solution à examiner utilisée dans le Dosage B.

Région spectrale : 200 - 350 nm.

Maximum d'absorption : à 274 nm.

DOSAGE

Effectuez la méthode A ou la méthode B. En cas de doute ou de litige sur les résultats obtenus, seule fait autorité la méthode A.

Réalisez le dosage sur la solution récemment décongelée.

A. Chromatographie liquide (2.2.29).

Préparez les solutions immédiatement avant emploi ou conservez-les à 2-8° C pendant 6 h au maximum.

Solution à examiner. Prélevez 1,0 mL de la solution stérile de céfuroxime à 10 mg/mL et complétez à 10,0 mL avec de l'eau R. Prélevez 1,0 mL de cette solution et complétez à 10,0 mL avec de l'eau R.

Solution témoin (a). Dissolvez 26,3 mg de *céfuroxime sodique SCR* dans de l'eau R et complétez à 25,0 mL avec le même solvant. Prélevez 5,0 mL de cette solution et complétez à 50,0 mL avec de l'eau R.

Solution témoin (b). Chauffez 20 mL de solution témoin (a) dans un bain-marie à 80 °C pendant 15 min. Refroidissez et injectez immédiatement.

Colonne :

– *dimensions* : l = 0,125 m, Ø = 4,6 mm,

– *phase stationnaire* : gel de silice hexylsilylé pour chromatographie R (5 µm).

Phase mobile : mélangez 1 volume d'acétonitrile R et 99 volumes d'une solution tampon acétate pH 3,4, préparée en dissolvant 6,01 g d'acide acétique glacial R et 0,68 g d'acétate de sodium R dans de l'eau R et en complétant à 1000 mL avec le même solvant.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que les préambules du Formulaire national et de la Pharmacopée française s'appliquent

Formulaire national 2010

Débit : 1,5 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 273 nm.

Injection : injecteur à boucle de 20 µL.

Enregistrement : 4 fois le temps de rétention de la céfuroxime.

Rétention relative par rapport à la céfuroxime (temps de rétention = environ 12 min) : impureté A = environ 0,7.

Conformité du système : solution témoin (b) :

– *résolution* : au minimum 2,0 entre les pics dus à la céfuroxime et à l'impureté A.

– *facteur de symétrie* : 0,8 à 1,5.

Calculez la teneur en $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ en tenant compte de la teneur déclarée de la *céfuroxime sodique SCR* et sachant que 1 mg de $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ correspond à 0,9508 mg de $C_{16}H_{16}N_4O_8S$.

B. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25).

Solution à examiner. Prélevez 1,0 mL de solution stérile de céfuroxime à 10 mg/mL et complétez à 100,0 mL avec une solution de *chlorure de sodium R* à 9 g/L. Prélevez 20,0 mL de cette solution et complétez à 100,0 mL avec le même solvant.

Solution témoin. Dissolvez 21,0 mg de *céfuroxime sodique SCR* dans une solution de *chlorure de sodium R* à 9 g/L et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 10,0 mL de cette solution et complétez à 100,0 mL avec le même solvant.

Mesurez l'absorbance (2.2.25) des solutions au maximum d'absorption à 274 nm.

Calculez la teneur en $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ en tenant compte de la teneur déclarée de la *céfuroxime sodique SCR* et sachant que 1 mg de $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ correspond à 0,9508 mg de $C_{16}H_{16}N_4O_8S$.

CONSERVATION

À température ambiante (15 °C à 25 °C) ou au réfrigérateur (2 °C à 8 °C) après décongélation : au maximum 6 h.

À une température inférieure ou égale à – 15 °C : au maximum 3 mois.

ÉTIQUETAGE

L'étiquette indique que la préparation est réservée à l'usage hospitalier.

L'étiquette indique la dose à injecter dans la chambre antérieure de l'œil : 1 mg de céfuroxime en dose unique, soit 0,1 mL de la solution stérile préparée.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que les préambules du Formulaire national et de la Pharmacopée française s'appliquent

Formulaire national 2010

CONDITIONS D'ADMINISTRATION

Décongelez les préparations à température ambiante ou au réfrigérateur.
Vérifiez visuellement avant utilisation l'absence de particules dans la seringue.
Homogénéisez avant l'injection.

Usage injectable : dans la chambre antérieure de l'œil lors des interventions chirurgicales de la cataracte.

CLASSE THÉRAPEUTIQUE

Anti-infectieux général pour usage systémique, antibactérien pour usage systémique.
Classe ATC : J01D C02 (céfuroxime).

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que les préambules du Formulaire national et de la Pharmacopée française s'appliquent

Formulaire national 2010

Publications et travaux

Publications internationales

Stability of 10mg/mL cefuroxime solution for intracameral injection in new cyclic olefin copolymer (COC) sterile vials.

Frédéric Feutry, Nicolas Simon, Stéphanie Genay, Damien Lannoy, Christine Barthélémy, Bertrand Décaudin, Pascal Odou

Drug Development and Industrial Pharmacy, 2016 Jan 2;42(1):166–74.

Simultaneous quantification of five plasticizers (ATBC, DEHP, DEHT, DINCH and TOTM) in a single run HPLC analysis.

Tsanta Radaniel, Stéphanie Genay, Nicolas Simon, Frédéric Feutry, Francesca Quagliozi, Christine Barthélémy, Valérie Sautou, Bertrand Décaudin, Pascal Odou, for the ARMED study group.

Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. 2014;965:158–63.

1.

Publications internationales soumises

Identification and quantification by nuclear magnetic resonance spectroscopy of seven plasticizers in medical devices

Genay, Stéphanie ; Feutry, Frédéric ; Masse, Morgane ; Barthélémy, Christine ; Sautou, Valérie ; Odou, Pascal ; Décaudin, Bertrand ; Azaroual, Nathalie

Analytical and Bioanalytical Chemistry

How to solve the problem of co-elution between two compounds in liquid chromatography through the first UV derivative spectrum. A trial on alternative plasticizers to di(2-ethylhexyl) phthalate.

Morgane Masse ; Stéphanie Genay ; Frédéric Feutry ; Nicolas Simon ; Christine Barthélémy ; Valérie Sautou ; Bertrand Décaudin ; Pascal Odou

Talanta

Communications orales internationales

Stability of midazolam and noradrenaline stored in cyclic olefin copolymer AT-Closed Vials® and polypropylene syringes during 365 days

Frédéric Feutry, Stéphanie Genay, Carine Velghe, Christine Barthélémy, Bertrand Décaudin, Pascal Odou

14^{èmes} journées européennes du Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) 2016 (5, 6 et 7 octobre 2016 ; Hyères ; France)

Identification and quantification of six polyvinyl chloride plasticizers by proton nuclear magnetic resonance in infusion medical devices

F. Feutry, S.Genay, M.Masse, C.Barthélémy, V.Sautou, B.Décaudin, P.Oudou, N.Azaroual for the ARMED study group

9th International Conference on "Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications", (20-24 septembre 2015 ; Kalamata ; Grèce)

Evaluation of the stability of a 10mg/mL cefuroxime solution for intra cameral injection in new sterile vials.

Frédéric Feutry, Nicolas Simon, Stéphanie Genay, Tsanta Radaniel, Damien Lannoy, Christine Barthélémy, Bertrand Décaudin, Pascal Odou

1^{er} prix de la communication orale aux 11^{èmes} journées européennes du Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) 2013 (2, 3 et 4 octobre 2013 ; Hyères ; France)

Communications internationales affichées

Stability of 1 IU/mL diluted insulin solution: don't forget the preservatives!

Stéphanie Genay, Frédéric Feutry, François Potié, Christine Barthélémy, Bertrand Décaudin, Pascal Odou

14^{èmes} journées européennes du Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) 2016 (5, 6 et 7 octobre 2016 ; Hyères ; France)

Use of UV spectrum derivative chromatography method to solve coelution between two plasticizers

Morgane Masse, Stéphanie Genay, Frédéric Feutry, Nicolas Simon, Valérie Sautou, Christine Barthélémy, Bertrand Décaudin, Pascal Odou

18th edition of EuroAnalysis , The European Conference on Analytical Chemistry, 2015 (6-10 septembre 2015 ; Bordeaux ; France)

Comparison between two syringes changeovers techniques: Quick-change versus Smart-pump.

S.Genay, S.Lédé, F.Feutry, C. Barthélémy, G.Lebuffe, B.Décaudin, P.Odou

ASA (American Society of Anesthesiologists) 2014 Annual Meeting (16-19 août 2014 ; San Francisco ; Etats-Unis)

Insulin infusion: the right equipment for good care!

S.Genay, F.Feutry, A.Santoni, B.Décaudin, C.Barthélémy, N.Simon, P.Odou

19th EAHP (European Association of Hospital Pharmacists) Congress, mars 2014, Barcelone

Communication nationale affichée

Stabilité de la noradrenaline conditionnée en poche et en seringue aux concentrations thérapeutiques usuelles

Carine Velghe, Stéphanie Genay, Frédéric Feutry, Christine Barthélémy, Bertrand Décaudin, Pascal Odou

Congrès Hopipharm; 18-20 mai 2016; Clermont-Ferrand

Physicochemical interaction study between parenteral products and Crystal[®] vial, a new primary packaging usable in Centralized IntraVenous Additive Services

Summary: Centralized preparation of parenteral products in the pharmacy can ensure a higher quality but requires a stability of the drugs in the chosen primary packaging and a sufficient production capacity. Aseptic Technologies has developed an automated primary packaging filling system using a closed, sterile and ready-to-use cyclic olefin copolymer vial called “Crystal[®] vial”. This vial is filled through the elastomeric septum and then immediately re-sealed by laser, thus reducing the risk of microbial contamination.

We have evaluated risks linked to the use of Crystal[®] vials:

- Sorption risk is correlated with substance lipophilicity. During 3 months, we have evaluated concentration evolution of 8 cytotoxic drugs (with different water/octanol partition coefficients) by HPLC/MS. Same methodology was used to measure concentration evolution of 3 platinum-derived drugs by NMR during 24 hours.
- About the permeation risk, we have evaluated concentration evolution of phenol and metacresol in a 1UI/mL insulin solution during 50 days by HPLC/UV in Crystal[®] vials stored upright and upside down. Two stoppers formulations exist and were tested.
- Extreme pH solutions can lead to the presence of particles in the parenteral product. Impact of these solutions in Crystal[®] vials on particles contamination was studied and particles characterized.
- Plasticizers may migrate from the primary packaging to the parenteral products. After isopropanol reflux extraction on the COC body and thermoplastic elastomer stopper, potential plasticizers were identified and quantified using NMR.

Finally, stabilities of ready-to-use cefuroxime, midazolam and noradrenaline solutions in Crystal[®] vials were determined and compared to polypropylene syringes.

The 8 cytotoxic drugs mean concentrations were between 90% and 110% at day 62 with no correlation with partition coefficient. Lack of interactions was demonstrated too for the oxaliplatin and carboplatin solution by NMR. Accuracy of NMR cisplatin quantification was not sufficient.

Studies performed on preservatives highlighted a metacresol permeation risk during storage at 25°C/60%RH for 50 days (loss of 19.7% and 20.3% respectively for Crystal[®] vials stored upright and upside down). Use of the second formulation stopper allowed a large decrease of permeation (loss of 2.6% at day 50)

An important particles contamination was observed only with extrem alkaline pH and contact with the stopper (6820 particles $\geq 10\mu\text{m}$ in a 20mL Crystal[®] vials stored upside down during 7 days). Particles are fibrous and essentially composed by non-organic substances.

NMR analysis highlighted presence of plasticizers in both COC body and elastomer stopper but concentrations were below the 1000 $\mu\text{g/g}$ threshold described by the REACH regulation.

Cefuroxime solution (1mL at 10mg/mL) was stable 365 days at -20°C. Midazolam solution (50mL at 1mg/mL) and noradrenaline solution (20mL and 50mL at 0.2mg/mL ; 50mL at 0.5mg/mL) were stable 365 days at 5°C. Same results were achieved in polypropylene syringes.

Crystal[®] vials were not subject to sorption phenomena. There was no risk of plasticizer migration. Metacresol permeation risk was controlled using the new stopper. Packaging of alkaline solution must be monitored. Solutions of cefuroxime (-20°C), midazolam and noradrenaline (5°C) are stable 1 year. In regards to storage in polypropylene syringes, Crystal[®] vials could be preferred for their automated aseptic filling process and for logistic considerations particularly taking into account the space gains.

Key words: primary packaging, parenteral drugs, CIVAS, stability study, aseptic filling, content-container interactions

Étude des interactions physico-chimiques entre les préparations parentérales et un nouveau conditionnement primaire utilisable en unité de préparation centralisée, le flacon Crystal[®]

Résumé : La centralisation de la préparation des médicaments injectables à la pharmacie permet d'assurer un haut niveau de qualité mais nécessite une stabilité du médicament dans le conditionnement choisi et une capacité de production suffisantes. Aseptic Technologies a développé un système de remplissage automatisé de conditionnement primaire utilisant un flacon en copolymères d'oléfinés cycliques (COC) clos, stérile et prêt à l'emploi appelé « flacon Crystal[®] ». Ce flacon est rempli à travers le bouchon et est re-scellé par laser, réduisant ainsi le risque de contamination microbiologique.

Nous avons évalué les risques liés à l'utilisation du flacon Crystal[®] :

- Le risque de sorption est corrélé à la lipophilie de la substance conditionnée. Pendant 3 mois, nous avons évalué l'évolution de la concentration de 8 molécules cytotoxiques (de coefficients de partage octanol/eau différents) par CLHP/MS. Une méthodologie identique a permis le suivi des concentrations, pendant 24 heures de 3 molécules dérivées du platine par RMN.
- Concernant le risque de perméation, nous avons évalué l'évolution des concentrations en phénol et métacrésol dans une solution à 1UI/mL d'insuline conditionnée dans des flacons Crystal[®] conservés droits et retournés pendant 50 jours par CLHP/UV. Deux formulations différentes de bouchons ont été testées.
- Les solutions de pH extrêmes peuvent conduire à la présence de particules dans la solution injectable. L'impact sur la contamination particulaire du conditionnement de ces solutions dans les flacons Crystal[®] a été étudié et les particules caractérisées.
- Les plastifiants peuvent migrer du conditionnement primaire vers la préparation parentérale. Après extraction par reflux à l'isopropanol sur le corps en COC et le bouchon en élastomère, les éventuels plastifiants ont été identifiés et dosés par RMN.

Enfin, les stabilités de solutions de céfuroxime, midazolam et noradrénaline conditionnées en flacon Crystal[®] ont été déterminées et comparées à la seringue en polypropylène (PP).

Les concentrations moyennes des 8 molécules cytotoxiques étaient comprises entre 90% et 110% à J62 sans corrélation avec le coefficient de partage. L'absence d'interaction a aussi été démontré pour le carboplatine et l'oxaliplatine par RMN. La précision de la quantification par RMN du cisplatine n'était pas suffisante.

Il existe un risque de perméation du métacrésol lors du stockage à 25°C/60%RH pendant 50 jours (perte de 19,7% et de 20,3% pour les flacons Crystal[®] droits et retournés respectivement). La seconde formulation du bouchon permet de maîtriser le phénomène (perte de 2,6% à J50).

Une contamination particulaire importante a été observée lors du conditionnement d'une solution basique et d'un contact avec le bouchon pendant 7 jours (6820 particules $\geq 10\mu\text{m}$ dans un flacon Crystal[®] de 20mL) Les particules sont fibreuses et composées essentiellement de molécules inorganiques.

Les analyses RMN mettent en évidence la présence de plastifiants dans le corps en COC et le bouchon à des concentrations largement en-dessous de la limite de 1000 $\mu\text{g/g}$ définie par la réglementation REACH.

La solution de céfuroxime (1mL à 10mg/mL) était stable 365 jours à -20°C. Les solutions de midazolam (50mL à 1mg/mL) et de noradrénaline (20mL et 50mL à 0,2mg/mL ; 50mL à 0,5mg/mL) étaient stables 365 jours à 5°C. Des résultats similaires ont été obtenus lors de la conservation en seringue PP.

Les flacons Crystal[®] ne sont pas sujets aux phénomènes de sorption. Il n'y a pas de risque de migration de plastifiants. Le risque de perméation du métacrésol est contrôlé par l'utilisation du nouveau bouchon. Le conditionnement de solutions basiques doit être surveillé. Les solutions de céfuroxime (à -20°C), de midazolam et de noradrénaline (à 5°C) sont stables 1 an. Par rapport à la seringue PP, le flacon Crystal[®] pourrait être préféré de par son système de remplissage aseptique automatisé ainsi que pour des considérations logistiques, en particulier le gain de place.

Mots clés : conditionnement primaire, médicaments destinés à la voie parentérale, CIVAS, étude de stabilité, remplissage aseptique, interactions contenu-contenant